

REVISTA CIENCIAS NATURALES

e-ISSN 2953-5441

Facultad de Ciencias Naturales · Universidad Nacional de Salta

2024

Vol. 2 (1)



La presente edición fue financiada por la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Argentina.



e-ISSN 2953-5441

Vol. 2(1)

Revista Ciencias Naturales

https://revistas.natura.unsa.edu.ar/index.php/rfcn

rev.cs.naturales@unsa.edu.ar

rev.cs.naturales@gmail.com

Universidad Nacional de Salta

Facultad de Ciencias Naturales

Av. Bolivia 5150 (A4408FVY), Salta - Argentina

http://natura.unsa.edu.ar/web/index.php




e-ISSN 2953-5441

Vol. 2(1)

La Revista Ciencias Naturales es una revista científica editada por la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Salta (Argentina). Está dirigida a investigadores y profesionales de las Ciencias Naturales, así como a estudiantes avanzados y académicos que deseen realizar un aporte a la difusión del conocimiento científico.

De acceso abierto, libre y gratuito, la publicación busca difundir los resultados de trabajos originales de investigación y experimentación de todas las temáticas vinculadas al ámbito de las Ciencias Naturales, tales como, Agronomía, Biología, Geología, Recursos Naturales, Medicina, Veterinaria, y otras discilinas relacionadas. Las principales áreas cubiertas son las referidas a la Anatomía, Morfología, Fisiología, Genética, Biotecnología Aplicada, Taxonomía, Diversidad, Ecología, Geología, Ciencias de la Tierra, Paleontología, entre otras, cuyos aportes sean significativos para el conocimiento de las Ciencias Naturales.

Las contribuciones pueden ser artículos, revisiones, notas (científicas, informes de proyectos institucionales o proyectos de extensión), reseñas de libros y tesis (síntesis).

Con una periodicidad semestral de publicación, la convocatoria para la presentación de trabajos se encuentra abierta de forma permanente.



e-ISSN 2953-5441
Vol. 2(1)

Universidad Nacional de Salta

Daniel Hoyos

Rector

Nicolás Innamorato

Vicerrector

Facultad de Ciencias Naturales

Julio Rubén Nasser

Decano

Marta Cristina Sanz

Vicedecana

Rebeca Acosta

Secretaria Académica

Ana L. Zelarayán

Secretaria Articulación Institucional

Juan G. Veizaga

Secretario Técnico y de Asuntos Estudiantiles



e-ISSN 2953-5441

Vol. 2(1)

EQUIPO EDITORIAL



e-ISSN 2953-5441
Vol. 2(1)



Instrucciones para los Autores

El manuscrito debe ajustarse a la normativa APA 7ma edición (American Psychological Association). Formato Word. Configuración: hoja A4, con márgenes de 2 centímetros. Extensión máxima 20 páginas (incluyendo tablas y figuras). Texto con fuente Times New Roman (cuerpo 12), doble espacio, alineado a la izquierda (sin tabulaciones).

Estructura del Artículo

Título, Autor/es, Resumen y Palabras clave, Abstract & Keywords, Texto: Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión y Conclusión, Agradecimientos, Referencias, Figuras y Tablas. Esta organización puede cambiar según el tema del artículo. La estructura para Flora del Valle de Lerma continuará con su estilo tradicional hasta concluir dicha obra.

Título

El título del artículo en español e inglés, con mayúscula cada palabra. Los trabajos en inglés con el título en español. Si el título incluye nombre de especies y/o géneros, en cursiva sin autor/es.

Agregar, en renglón aparte, título abreviado para el encabezamiento de las páginas.

Ejemplo: Las Especies de *Muhlenbergia* (Poaceae: Chloridoideae) de Argentina

The Species of *Muhlenbergia* (Poaceae: Chloridoideae) from Argentina

Título abreviado: *Muhlenbergia* de Argentina

Autores

Los nombres de los autores se escriben completos, nombres y apellido separados por "coma", uno a continuación del otro. Indicar con superíndice el lugar de trabajo y con asterisco (*) la dirección electrónica del autor principal o del autor corresponsal.

Indicar lugar de trabajo sin abreviaturas, con nombre completo de la institución (siglas entre paréntesis), dirección, código postal, ciudad, provincia y país.

Los autores deberán proporcionar email e identificador ORCID (crearlo gratuitamente en https://orcid.org.)

Ej. Un autor: Paula A. López

Dos autores: Paula A. López [1]*& Adrián J. Gómez[2]

Resumen, Abstract - Palabras Claves, Keywords

Resumen y Abstract en un único párrafo (hasta 250 palabras), con una breve presentación, relevancia del estudio, objetivo, materiales y métodos, principales resultados y conclusiones.

Palabras clave y keywords, entre tres y cinco palabras (la primera letra con mayúscula), separadas por ";" y ordenadas alfabéticamente (no usar palabras incluidas en el título).

Los trabajos en inglés con Resumen en español.

Texto

Los nombres de géneros, especies y categorías infraespecíficas, en cursiva. El nombre de una especie debe ir completo cuando se mencione por primera vez, en el resto del texto sin siglas.

Nombres científicos y términos como *et al., in vitro, sensu lato,* en cursiva.

Para los tratamientos taxonómicos, la nomenclatura rige el Código Internacional de Nomenclatura que corresponda. Para lectotipificación, un nuevo sinónimo o una nueva combinación, usar respectivamente "lectotipo aquí designado", "syn. nov.", o "comb. nov.".

Material estudiado: citar los datos en el siguiente orden: País (en mayúscula), provincia, localidad, altura, fecha, colector y número de colección, y sigla (en mayúscula y entre paréntesis) de la institución donde se encuentra depositado el ejemplar. Ej.: ARGENTINA. Prov. Salta: Dpto. La Caldera, Vaqueros, río Vaqueros, 800 m al E del puente de ingreso al pueblo desde Salta, 1250 m s.m., 4-10-1997, Novara 10946 (MCNS).

Figuras

Las Figuras se citan en el texto como: Fig. 1, Fig. 2B, Figs. 2B-E., Figs. 1C, 3D, etc.

Figuras en formato JPG con 300 dpi de resolución. No se aceptan archivos en Power Point.

Tamaño: ancho máximo de 15 cm, altura máxima de 20 cm; para una columna: 73 mm de ancho.

Para figuras con varias imágenes rectangulares dejar un margen de espaciado vertical y horizontal de 2 mm entre ellas. Cada imagen debe tener una escala y su identificación con una letra mayúscula (Arial 12 en negrita). Se pueden agregar letras o abreviaturas en minúscula (Arial 9) para señalar detalles.

Las leyendas de las figuras se ubican al final del texto. Ejemplos:

Figura 1. *Poa annua*. **A**. Inflorescencia. **B**. Tallo y parte superior de la vaina.

Figura 2. *Commelina erecta*. Fotografía del aspecto general de la planta. De L. Novara.

Tablas

Diseñar las Tablas en Word, al final del manuscrito. Se numeran con números arábigos.

Las dimensiones deben respetar el tamaño de la caja de la revista, 15 cm × 20 cm, o el ancho de una columna (7,2 cm).

Las leyendas deben ubicarse en el encabezado de la página de la tabla.

Referencias (formato APA 7)

Citas en el texto

Un autor: (Smith, 2021), Smith (2021)

Dos autores: (Smith & Tryon, 2022), Smith & Tryon (2022)

Tres o más autores: (Smith *et al*., 2023), Smith *et al*. (2023)

Para citar varias obras, organizarlas cronológicamente. Ej.: (Morales, 1998; Smith *et al*., 2003; Lewis & Dalton, 2022).

Artículo impreso sin DOI

Martínez Carretero, E. (1995). La Puna Argentina: delimitación general y división en distritos florísticos. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica, 31, 27-40.

Artículo on line sin DOI

López, P. D., & Labiano, M. C. (2022). Morfología comparativa de los estróbilos de seis especies sudamericanas del género Selaginella (Lycophyta). Revista Ciencias Naturales, 1(1), 1-9. https://portalderevistas.unsa.edu.ar/index.php/rfcn/article/

Artículo con DOI

Zander, R. H., Suárez, G. M., & Jiménez, S. (2021). Cleistocarpous Tortella species from South America comprise a new genus of Pottiaceae. Bryologist, 124(3), 385-390. https://doi.org/10.1639/0007-2745-124.3.385

Libro

Lee, R. E. (2008). Phycology. (5º Ed). Cambridge University Press. EEUU

Capítulo de libro

Faden, R. B. (1985). Commelinaceae. En R. M. Dahlgren, H. T. Clifford, & P. F. Yeo (Eds.), The families of the Monocotyledons (pp. 381-387). Springer.

Tesis

León, B. (1992). A taxonomic revision of the form genus Campyloneurum (Polypodiaceae) [tesis doctoral, Aarhus University].

No colocar punto después del DOI o URL para no interferir con el enlace.



e-ISSN 2953-5441

Vol. 2(1)

CONTENIDO

REVISTA
CIENCIAS NATURALES
Facultad de Ciencias Naturales · Universidad Nacional de Salta

e-ISSN 2953-5441
Vol. 2(1): 10-21

ARTÍCULO

Antiviral Activity in Silico of Benzylisoquinoline Alkaloids existing in *Berberis lilloana* and *B. commutata* against key Proteins of SARS-Cov-2

Actividad Antiviral in Silico de Alcaloides Bencilisoquinolinas Presentes en *Berberis lilloana* y *B. commutata* Contra Proteínas Claves Del SARS-Cov-2

María A. Zígolo

Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150, (4400) Salta, Argentina. maz130685@gmail.com

Abstract

SARS-CoV-2, a new strain of coronavirus (CoV), was identified in Wuhan, China, in 2019, and has been threatening public health worldwide. The aim of this work was to evaluate protoberberine alkaloids compounds of vegetal origin as potential SARS-CoV-2 inhibitors through docking studies. Three key proteins of SARS-CoV-2, recently crystallized, were used as molecular targets: the spike glycoprotein (S), the main protease (Mpro) and the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). Molecular docking was performed using AutoDock, with the Lamarckian Genetic Algorithm, to analyse the probability of docking. The best energy binding values for S protein were, in kcal/mol: -10.67 for Jatrorrhizine, -9.65 for berberine, -9.22 for 5, 6-dihydroconstrictosine. For Mpro, they were, in kcal/mol: -10.15 for 5,6-dihydroconstrictosine, -9.86 for jatrorrhizine, -8.48 for berberubine. Finally, the best binding values for RdRp were, in kcal/mol: -9.04 for belambine, -8.99 for canadine and -8.90 for berberine. Key hydrogen bonds and hydrophobic interactions between protoberberine alkaloids and the respective viral proteins were identified. These results suggest that these alkaloids could potentially be useful as drugs to be experimentally evaluated against COVID-19.

Keywords: Binding affinity; Docking; Protoberberine alkaloids; SARS-CoV-2

Resumen

El SARS-CoV-2, una nueva cepa de coronavirus identificada en Wuhan, China, en 2019, ha estado amenazando la salud pública en todo el mundo. El objetivo de este trabajo fue estudiar compuestos alcaloides de protoberberina de origen vegetal como potenciales inhibidores del SARS-CoV-2 mediante estudios de acoplamiento. Se emplearon como dianas moleculares tres proteínas claves del SARS-CoV-2, recientemente cristalizadas: la glicoproteína de pico (S), la proteasa principal (Mpro) y la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp). El acoplamiento molecular se realizó mediante AutoDock, con el Algoritmo Genético Lamarckiano, para analizar la probabilidad de acoplamiento. Los mejores valores de energías de unión para la proteína S fueron, en kcal / mol: -10,67 para jatrorrizina, -9,65 para berberina y -9,22 para 5,6-dihidroconstrictosina. Para Mpro fueron, en kcal/mol: -10,15 para 5,6-dihidroconstrictosina, -9,86 para jatrorrizina y -8,48 para berberubina. Para RdRp fueron, en kcal / mol: -9.04 para berlambina, -8.99 para canadina, y -8.90 para berberina. Se identificaron enlaces de hidrógeno claves e interacciones hidrofóbicas entre algunos de los alcaloides de protoberberina y las respectivas proteínas virales. De estos resultados surge que estos alcaloides podrían ser potencialmente útiles como fármacos antivirales a ser evaluados experimentalmente contra COVID-19.

Palabras clave: Afinidad de unión; Alcaloides de protoberberina; Docking; SARS-CoV-2

Zigolo, M. A. (2024). In Silico Antiviral Activity from *Berberis lilloana* and *B. commutata*. Protoberberine Alcaloids Against Key Proteins SARS-Cov-2. Revista Ciencias Naturales, 2(1), 10–21.

Recibido: 26/7/2023 Aceptado: 21/2/2024 Publicado: 15/3/2024 Editora: María Victoria García

INTRODUCTION

In 2019, a new coronavirus caused an outbreak of pulmonary disease in the city of Wuhan, the capital of Hubei province in China, and has since spread globally and represent a challenge to public health. This virus has been named SARS-CoV-2, because the RNA genome is about 82% identical to the SARS coronavirus (SARS-CoV). The disease caused by SARS-CoV-2 is called COVID-19 (Wu *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020). Human-to-human transmission is very fast. (Li, 2020). However, waiting for a vaccine, there are currently no effective medications against 2019-nCoV/ SARS-CoV-2.There is an urgent need for the development of effective prevention and treatment strategies for COVID-19 disease. Taking into account that although many of the vaccines developed promise to be very effective, the period of immunity they will generate in the population is unknown. (Detoc *et al.*, 2020; Kaur & Gupta, 2020; Malika *et al.*, 2020).

Many drugs known for their effectiveness against other viruses are being investigated in search of a solution to the rapid and lethal advance of the new SARS-CoV-2. Some protease inhibitors used for treatment of patients with Human Immunodeficiency Virus infection and acquired immune deficiency syndrome (HIV/AIDS) or neuraminidase inhibitors or nucleotide analogues like Remdesivir (GS-5734™) used for other pathogenic CoVs (Khaerunnisa *et al.*, 2020). Too the chloroquine/hydroxychloroquine extensively used against malaria and previously described as a potent inhibitor of most coronaviruses in vitro, including SARS-CoV-19 (White *et al.*, 2014; Devaux *et al.*, 2020). Plants are great producers of secondary metabolites with biological activity very interesting (Tallei *et al*., 2020; Yang *et al.*, 2018). The antiviral activitys of Many of these secundary metabolites have been described in numerous medicinal plants and associated with compounds like flavonoids, heterosides, terpenes, and triterpenes, organic acids, alkaloids, saponins, and quaternary ammonium salts, among others (Roy & Saraf, 2006; Cecil *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2017; Khaerunnisa *et al.*, 2020).

Many species containing protoberberin alkaloids have long been used in traditional medicine in India, China, Tibet, and Japan primarily as antimicrobial remedies (Leitao Da-Cunha *et al.*, 2005). The antiviral activity of berberine-related alkaloids was demonstrated and many of the infective mechanisms have been established. In respiratory syncytial virus infection (RSV), (Shin *et al.*, 2015) in several strains of influenza A H1N1 (Cecil *et al.*, 2011; Enkhtaivan *et al.*, 2018) and in the hepatitis C virus (Hung *et al.*, 2018).

Docking tools give information from protein-ligand interactions. This is critical when rushing in the search of metabolites that can cure or ease symptoms of diseases when time and resources for extensive experimental work are scarce. Recently, in the last months, many SARS-CoV-2 macromolecules have been crystallized which has been repositioned in the Protein Data Bank (PDB) and is accessible by the public. This allow more effective simulations may be performed than if model proteins from other closely related viruses have to be used (Jin *et al.*, 2020; Wrapp *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020). One of the best characterized drug targets among coronaviruses is the main protease (Mpro, also called 3CLpro) (Anand *et al.*, 2003; Joshi *et al*., 2020, 2021).

This enzyme is essential for processing the polyproteins that are translated from the viral RNA (Hilgenfeld, 2014). Cleavage by 3CLpro and others viral proteases occurs at a conserved glutamine catalitic residue via the protease CYS-HIS dyad in which the cysteine thiol functions as the nucleophile in the proteolytic process (Anand *et al.*, 2003). In the initial stage of the SARS-CoV-2 replication cycle, the attachment of the virion to the host cell is initiated by interactions between the S protein (spike) and human angiotensin-converting enzyme (ACE2 receptor) (Hoffmann *et al.*, 2020). The S protein-receptor interaction is the primary determinant for a coronavirus to infect a host species and governs the

tissue tropism of the virus. Structurally, the coronavirus spicule is a trimer arranged asymmetrically. Each monomeric unit has three segments: an extensive ectodomain, a single-pass transmembrane segment, and a small intracellular tail (Walls *et al.*, 2016). The ectodomain contains two subunits; the S1 subunit allows binding to the ACE2 receptor while the S2 allows the fusion of viral and host membranes. Two major domains in S1, N-terminal domain (S1-NTD) and C-terminal domain (S1-CTD), have been identified. The S1-CTD, also known as the receptor-binding domain (RBD), is responsible for recognizing protein receptors ACE2 (Liu *et al.*, 2015). Also, the spike protein exists in two structurally distinct conformations, prefusion and postfusion.

All RNA viruses encode an RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) that catalyzes the synthesis of their RNAs. The polymerase RdRp is a crucial viral enzyme in the life cycle of RNA viruses; due this, it has been targeted in various viral infections, who the hepatitis C virus (HCV), the Zika virus (ZIKV), and coronaviruses (CoVs) (Ganesan & Barakat, 2017; Elfiky *et al.*, 2018, 2019). The RdRp active site is highly conserved, with two successive and surface-accessible aspartates in a beta-turn structure (Doublie & Ellenberger, 1998). This protein is an important target for new antiviral drugs for SARS-CoV2.

In the present study, we investigated commun protoberberine alcaloids from various vegetal species as potential inhibitor candidates for COVID-19 protease Mpro, the glycoprotein S and the RNA polymerase RdRp. These proteins are essential to the transmission and virulence of the virus. By inhibiting anyone of these proteins or all, for a higher active therapy, the severity of the infection will be reduced. Our efforts have been placed in competitively inhibiting the binding of its natural substrates. The findings of the present study will provide other researchers information to identify the right drug to combat COVID-19.

MATERIALS AND METHODS

Viral proteins

Main protease (Mpro)

SARS-CoV-2 Mpro was crystallized in a complex with N3 inhibitor and coordinates and structure factors were deposited in Protein Data Bank (PDB ID: 6LU7) (Jin *et al.*, 2020). The main protease monomer contains three domains. Domains I and II (residues 8-101 and 102-184) are made of antiparallel -barrel structures in a chymotrypsin-like fold responsible for catalysis. Binding pocket with the main residues: THR24, THR26, HIS41, PHE140, ASN142, GLY143, CYS145, HIS163, HIS164, GLU166, and HIS172. Contain the CYS-HIS catalitic dyad.

S protein

Due to the crucial importance of SARS-CoV-2- S spike protein, the characterization at the prefusion structure has been deposited in the Protein Data Bank (PDB ID: 6VSB) (Wrapp *et al.*, 2020).

RNA polymerase (RdRp)

RNA polymerase (RdRp) bound to its essential co-factors, nsp7 and nsp8 was crystallized and coordinates and structure factors were deposited in Protein Data Bank (PDB ID: 6NUR) (Kirchdoerfer & Ward, 2019).

Antiviral compounds

Different protoberberine alkaloids, of plant origin, with known antimicrobial activity, were selected and evaluated for their interaction with the two viral proteins. In addition, synthetic drugs at the present time used for the treatment of COVID-19 were used as controls. The alkaloids three-dimensional structure were obtained from database PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/): canadine (CID 21171), artavenustine (CID 181939), berberubine(CID 72704), berlambine (CID 11066), berberine (CID 2353), jatrorrhizine (CID 72323), lambertine (CID 10217), protopine (CID 4970), cryptopine (CID 72616), quinolizinium,

2,10 dihydroxy-13-oxidodibenzo (CID 148262), constrictosine (CID 10016432), pallimamine (CID 132542920), orientalidine (CID 185550), 5,6-dihydroconstrictosine (CID 10401464). The synthetic nelfinavir (CID 64143) and atazanavir (CID 148192), were used as controls for the interaction with Mpro and acyclovir (CID 135398513) and emtricitabine (CID 60877) to RdRp protein and and umifenovir (CID 131411) to S protein. The ivermectin (CID 9812710), chloroquine (CID 2719), hydroxychloroquine (CID 3652), were used like a control for the three proteins.

Docking analysis

Docking calculations were carried out with AutoDock software (consist of two generations of software: AutoDock 4 and AutoDock Vina). This software uses Lamarckian genetic algorithm (LGA) for calculations (Morris *et al.*, 2009). Number of genetic algorithm (GA) runs was set to 200 for each case analyzed. The Autodock 4 program was applied considering all rotatable bonds for ligands and the whole protein as a rigid structure. For the location and extent of the 3D area the search space was defined by specifying a center, the number of points at each dimension and the points between spaces to focus the search space in the enzyme active site or putative binding region.

For Mpro, the grid box center coordinates corresponded to the C atom of the histidine residue 163: x (-19.055), y (16.637), and z (64.100). Dimensions and extention of the grid box were 90 x 90 x 90 and point spacing was 0.492 Å. For the S protein, the grid box center coordinates corresponded to the oxygen atom of the alanine 419 residue for chain B: x (232.020), y (245.760), and z (265.659). Dimensions of the grid box were 124 x 124 x 124 and point spacing was 0.869 Å. Finally for the RNA polymerase RdRp, the grid box center coordinates corresponded to the nitrogen atom of the lysine 533 residue: x (142.000), y (139.000) and z (150.000). Dimensions of the grid box were 114x 114x 114 and point spacing was 0.469Å.

Prior to docking Mpro, the inhibitor N3 and water molecules were removed from the protein structure. Polar hydrogen atoms were added, and Gasteiger atom charges were assigned to protein atoms. Other parameters were set to default values.

The 200 conformers found for each compound with the Autodock program were grouped in clusters that were ordered according to a ranking, which was determined by the stability of the enzyme-ligand complexes within each cluster. Clustering of the 200 conformers was done according to the similarity with the conformation adopted inside the enzyme. The criterion used to evaluate such similarity was the residue mean quadratic square root deviation (RMSD). The residues were obtained through the difference between the atom coordinates of a given conformer respect to the cluster to which the most stable conformer belongs. Each cluster grouped conformers with RMSD lower or equal to 2.0 Å.

For visualization of protein-ligand complexes the software Visual Molecular Dynamics 1.9.1 (VMD) was used (Theoretical and Computational Biophysics Group, University of Illinois).

RESULTS

Selection of conformers

From the 200 docking runs for all the evaluated compounds, both from natural origin and the synthetic controls, the binding energies for each conformer were obtained which, in turn, were grouped into clusters. Each compound was represented by the most populated clusters, which in some cases were also those with the lowest binding energies. The binding energies for the interactions of each compound with the corresponding protein are shown in Table 1.

When Mpro protein interacted with natural compounds, similar values than those observed with the synthetic antivirals atazanavir and nelfinavir, were found. The strongest affinities for 5,6-dihydroconstrictosine and Jatrorrhizine, with ΔG of -10.15 and -9.86 kcal/mol, were obtained, respectively. Other

Alcaloid	Skeleton type	Mpro ΔG (kcal/mol)	S Protein ΔG (kcal/mol)	RpRp ΔG (kcal/mol)
Canadine	I	-7.69	-7.36	-8.99
Artavenustine	I	-7.33	-7.36	-7.76
Berberubine	II	-8.48	-7.67	-8.89
Berlambine	II	-7.38	-7.12	-9.04
Berberine	III	-7.35	-9.65	-8.90
Jatrorrhizine	III	-9.86	-10.67	-7.57
Lambertine	IV	-7.82	-9.20	-8.65
Protopine	V	-7.66	-7.40	-8.04
Criptopine	V	-7.94	-7.92	-7.80
Constrictosine	VII	-7.19	-7.20	-8.75
Pallimamine	VIII	-7.41	-9.11	-8.35
Orientalidine	IX	-7.36	-8.03	-7.41
5,6-dihydroconstrictosine	X	-10.15	-9.22	-7.57
Atazanavir		-9.47	-	
Nelfinavir		-8.25	-	
Umifenovir		-	-7.47	
Acyclovir		-	-	-5.88
Emtricitabine		-	-	-4.60
Chloroquine		-5.11	-7.25	-4.10
Hydroxychloroquine		-4.20	- 5.30	-5.10
Ivermectine		-6.70	-8.71	-6.03

Table 1. Gibbs free energy (ΔG, in kcal/mol) calculated for the interaction between SARS-CoV-2 and different molecular targets Mpro, S protein, RNA polymerase RdRp and selected alkaloids. Synthetic antivirals used as controls are in bold.

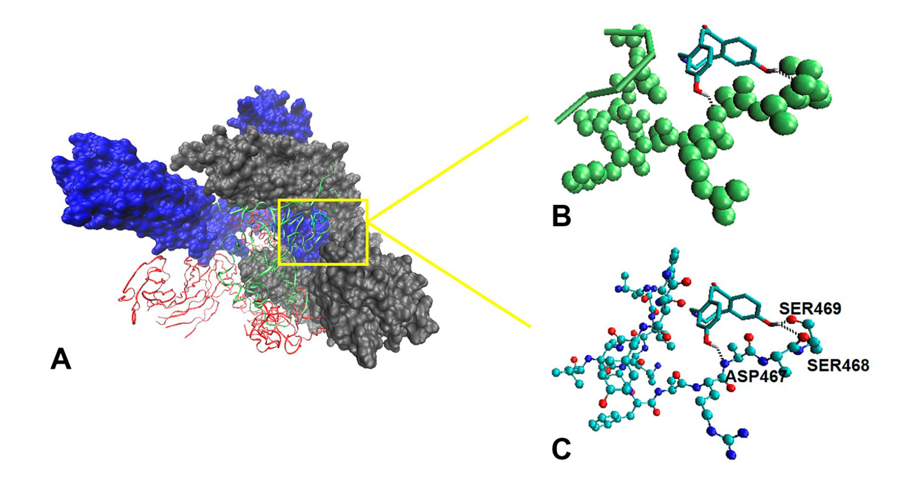


Figure 1. Three-dimensional (3D) molecular interaction of 5, 6 -dihydroconstrictosine with S glycoprotein. **A**. Structure of spike protein S: chain A (blue), chain B (red) and chain C (grey). Domain RBD of chain B (green ribbons). **B**. Residues 420 to 425 from domain RBD of chain B (green trace) and residues 460 to 461 (green spheres). The 5, 6- dihydroconstrictosine is represented in licorice form (cyan carbon atoms,

compounds showed interesting affinities for Mpro, for example: berberubine, canadine and cryptopine (Table 1). On the other hand, the plant-derived natural compounds evaluated for S protein, yielded very high affinity and slightly higher values compared to controls. The highest affinities were observed for jatrorrhizine, berberine, and 5,6-dihydroconstrictosine. The most interesting results were observed for jatrorrhizine and berberine (-10.67and -9.65 kcal/mol, respectively), which presented more affinity for the viral S protein compared to the synthetic antivirals umifenovir, ivermectin, chloroquine, and hydroxychloroquine (-7.47, -8.71, -7.25, and -5.30 kcal/mol, respectively) (Table 1).

Analysis of the molecular interactions of candidate compounds with the proteins evaluated.

The 5, 6- dihydroconstrictosine, berberine and jatrorrhizine showed the best interactions with the spike protein with the most favorable Gibbs free energies (-9.22, 9.65 and 10.67 kcal/mol respectively) (Table 1). 5, 6-dihydroconstrictosine interacted with a great number of residues from RBD domain (Fig. 1A). Whit residues 420 to 425 and 460 to 463 of chain B (Fig. 1B). There was a total of three hydrogen bonds with residues ASP467, SER469 and SER468 of the RBD domain of B chain (Fig. 1C).

Key interactions of possible candidate drugs with Mpro were analyzed: 5, 6-dihydroconstrictosine, jatrorrhizine, berberubine and nelfinavir (Fig. 2).

All the natural and semisynthetic active compounds were bounded to the enzyme active site, as well as the controls nelfinavir and atazanavir. The 5, 6-dihydroconstrictosine presented five hydrogen bond interactions (Fig. 2A): two with THR26 (2.51 Å and 2.73 Å), one whit GLY143 (1.33 Å), one with ASN142 (2.01 Å) and one with CYS145 (1.02 Å) implicated in CYS-HIS dyad. It also showed hydrophobic interactions with other residues from catalytic site. All these interactions increased the binding affinity with respect to the control compound nelfinavir, which presented only one hydrogen bond interactions with GLU166 (2.33 Å) and

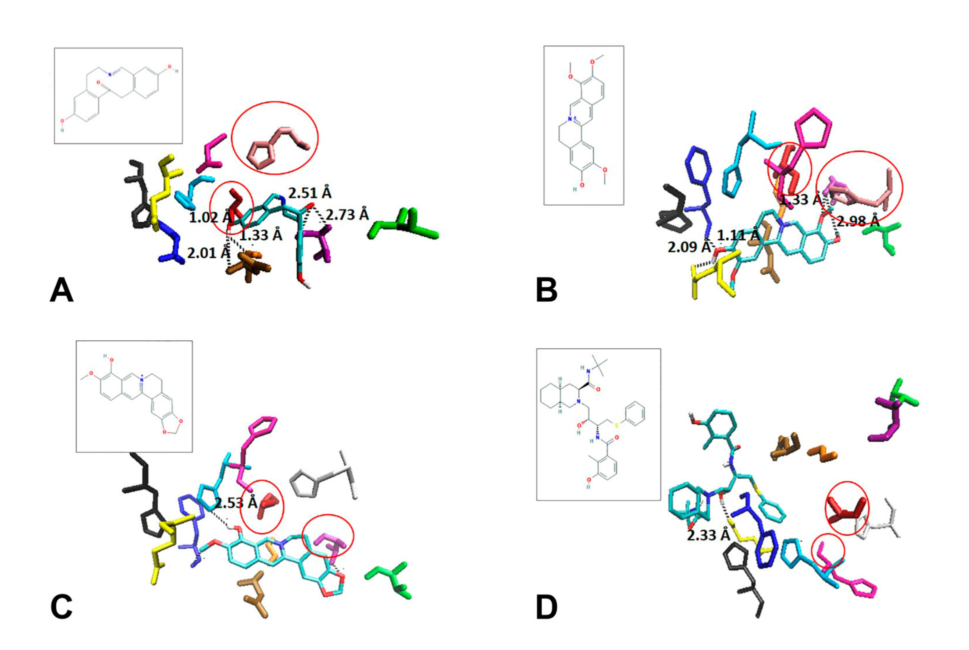


Figure 2. Three-dimensional (3D) molecular interaction of compounds: **A**. 5,6-dihydroconstrictosine. **B**. Jatrorrhizine. **C**. Berberubine. **D**. Nelfinavir with M^{pro}. Active site residues are represented with sticks: THR24 (green), THR26 (purple), HIS41 (pink), PHE140 (blue), ASN142 (brown), GLY143 (orange), CYS145 (red), HIS163 (cyan), HIS164 (magenta), GLU166 (yellow), and HIS172 (black). The black dotted lines, indicated Hydrogen bond. The residues CYS145 and HIS41 are indicated by red circle.

hydrophobic interactions with other protease catalytic residues (Fig. 2D). Jatrorrhizine, had four hydrogen bond interactions with catalytic residues HIS41 (implicad in CYS-HIS dyad), HIS164, GLU166 and PHE140 (2.98 Å, 1.33 Å, 2.09 and 1.11 Å respectively) and hydrophobic interactions with the other catalytic residues (Fig. 2B).

Berberubine interacted with the Mpro mainly by hydrophobic interactions, presenting only one hydrogen bond interaction with the HIS166 catalytic residue (Fig. 2C).

Jatrorrhizine and berberine interacted with residues 350 to 460 from RBD domain of B chain and the some residues of chain C. In contrast the control drug nelfinavir interacted only with residues of chain C (Fig. 3).

Berlambine, canadine and berberina binding to RdRp in NSP12, chain A (blue). All three alkaloids interact with the NSP12 chain through hydrophobic interactions with various residues of the polymerase including the ASP255 and ASP256 active site residues (Fig. 4).

DISCUSSION

Plants have a long evolutionary history of developing resistance against viruses. The ability to produce secondary metabolites, has generated a wide range of possible sources for antiviral drugs. Medicinal plants have been used ancestrally in different civilizations. The history have showed their low toxicity and their minimal adverse effects at the doses used. In this sense, representing an important advantage as compared with new synthetic drugs, which need to be evaluated for safety through strict clinical trials (Abbas *et al.*, 2016; Horden, 2016).

Phytocomplexes are mixtures of active compounds, formed by isomers and analogue compounds, with the capacity for synergistic activity and contains compounds that help mitigate the toxicity of the main active drugs. This help microorganisms are less likely to develop resistance to a phytocomplex than to a unique compound in a synthetic drug (Alonso, 2008; Bruneton, 2001; Camponovo & Bandoni, 1995). In this study, we analyzed variosus active compounds that are commonly found in the alkaloid extracts of various species of the Berberidaceae family and that have been used throughout history as medicinal plants.

It is important to highlight that all the evaluated protoberberine alkaloids bound with good affinities to the three evaluated SARS-CoV-2 targets. Therefore, we believe that they could act through different mechanisms of action.

The alkaloids 5, 6- dihydroconstrictosine and jatrorrhizine interact with key residues in main protease Mpro involved in substrate

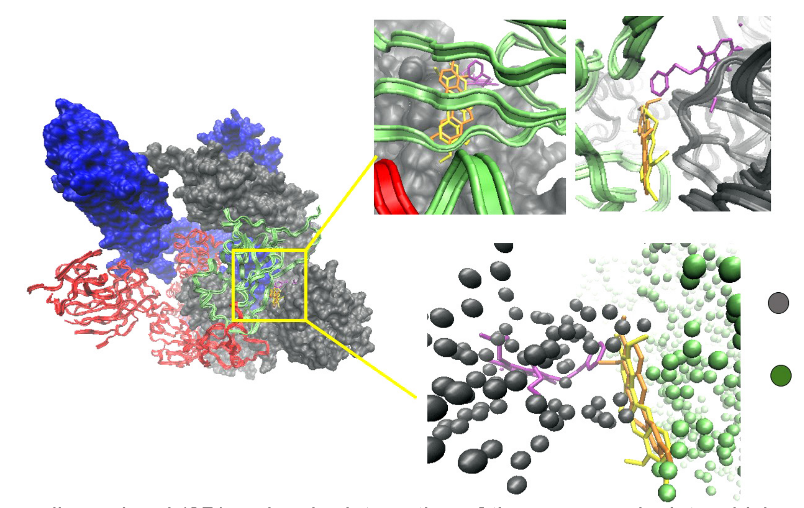


Figure 3. Three-dimensional (3D) molecular interaction of the compounds: jatrorrhizine (yellow), berberine (orange) and umifenovir (purple) with S glycoprotein. Structure of spike protein S: chain A (blue), chain B (red) and chain C (grey). Domain RBD of chain B (green ribbons). Residues 150 to 157 and 176 to 200 from chain C (grey spheres). RBD residues 350 to 460 from chain B (green spheres).

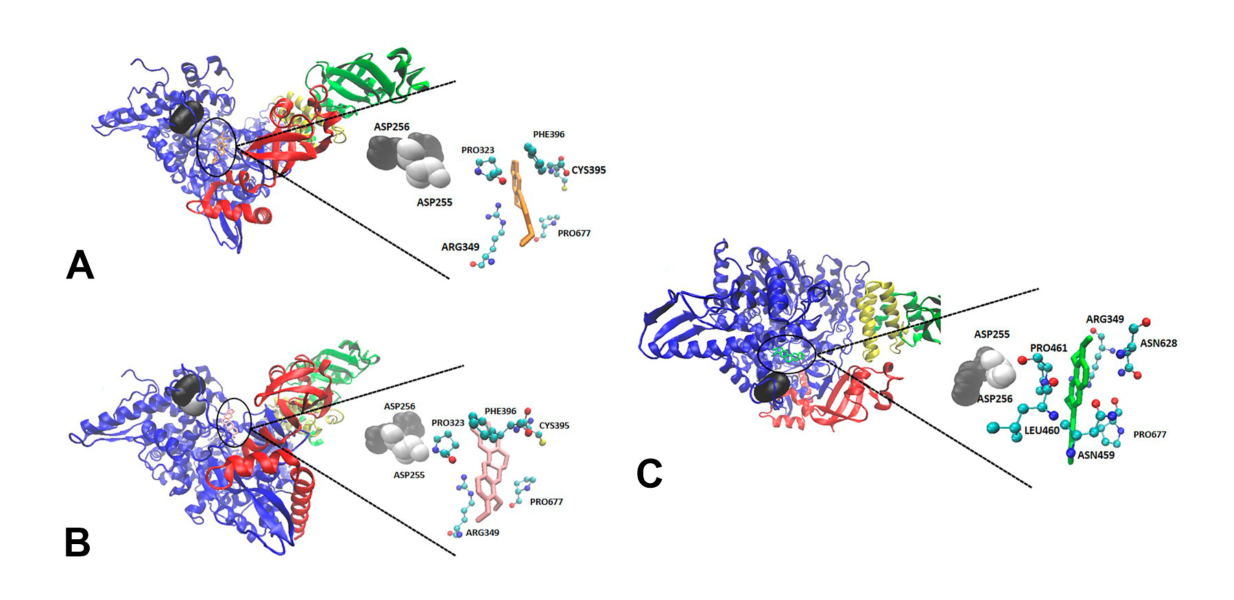


Figure 4. Three-dimensional (3D) molecular interaction of berlambine (**A**), canadine (**B**) and berberine (**C**) with polymerase RdRp. Black circles indicate the RdRp site where ligands bind. The two active site residues are shown as black (ASP256) and white (ASP255) spherical surface.

binding, including the CYS145-HIS41 dyad. This is an important factor for viral proteins sintesys inhibition. This factor was considered for the synthesis of potential inhibitors of the main protease Mpro structure-based ligand design. Macchiagodena *et al.* (2020), obtained a gibb-free energy value of -8.92 kcal/mol from to the most potent ligand for 3CLpro protease, which linked of the dyad CYS-HIS (Macchiagodena *et al.*, 2020). The compounds 5, 6-dihydroconstrictosine and jatrorrhizine showed higher free Gibbs energy (-10.15 and -9.61 kcal/mol).

The most studied protoberberine alkaloids is a Berberine. Berberine is marketed in various countries around the world as dietary supplements (BIOTICS RESEARCH®, DR. MEROLA®). It has antimalarial, antibacterial, and antiviral effects, among other biological activities (Wang *et al.*, 2017). Berberine can also inhibit the replication of influenza A in vitro in several different cell types and with two influenza A (H1N1) strains (Cecil *et al.*, 2011). As in this study, other researchers found that berberine displayed binding energy of -7.91 kcal/mol to Mpro (in this work -7.35 kcal/mol to Mpro and -9.65 kcal/mol to glycoprotein S) and had the ability to producing conformational changes in the target enzyme. (Agrawal *et al.*, 2020). In this work we show that it also binds to the spike protein S (-9.65 kcal / mol) and to the RdRp polymerase (-8.90) with higher affinity than in the Mpro protease. This makes it a very interesting compound to be clinically evaluated in COVID-19 considering that it is already commercially available and there are several laboratories that manufacture it.

Hydrophobic interactions played a particularly important role for the Mpro protein. In the case of berberubine and nelfinavir, which showed a good binding energy value, showed one only hydrogen bond and interactions of hydrophobic nature with the protease residues. Khaerunnisa *et al.* (2020) also showed the importance of hydrophobic interactions for a series of compounds of plant origin in the interaction with the viral protease Mpro (Malika *et al.*, 2020).

All of the compounds evaluated against S glycoprotein showed very favorable binding energies, higher than those for the synthetic

antiviral compounds, umifenovir (-7.47 kcal/mol), chloroquine (-7.25 kcal/mol), hydroxychloroquine (-5.30 kcal/mol) and ivermectin (-8.71 kcal/mol) directed to that viral target. The most favorable binding energies were obtained for jatrorrhizine (-10.67), berberine (-9.65kcal/mol), 5, 6-dihydroconstrictosine (-9.22 kcal/mol), lambertine (-9.20 kcal/mol) and pallimamine (-9.11 kcal/mol). These results are very promising. Others works, where the coupling of natural and synthetic compounds with viral glycoprotein S, were analyzed showed best binding energies obtained for S protein were: -11.55 kcal/mol to coenzyme A, -11.089 kcal/mol to flavin adenine dinucleotide, and - 9.36 kcal/mol to tiludronate (Hall & Ji, 2020).

In agreement with the low Gibbs free energy, for the 5, 6- dihydroconstrictosine, jatrorrhizine and brberine numerous molecular interactions were observed, all of them with the RBD region (recognition of ACE human receptors), chain B, were observed. Therefore, the three alkaloids would be a good candidate to be evaluated experimentally to learn how it would affect the glycoprotein activity.

The 5,6- dihydroconstrictosine is a arotopine alkaloids. This group of protoberberine alkaloids are apparently not very common. Their occurrence in Aristolochiaceae family was strictly confined to A. constricta. Protopine alkaloids are usually reported as C-2 substituted on the basis of biogenetic considerations. The unusual absence of C-2 substitution was noticed in the protopines of Aristolochia family (Rastrelli *et al.*, 1997).

Jatrorrhizine is found in some plant species from the families Papaveraceae, Berberidaceae, Menispermaceae, Ranunculaceae, and Rutaceae (Cecil *et al.*, 2011). This compound has demonstrated inhibits mammary carcinoma cells (Sun *et al.*, 2019), in vitro and in vivo antitumor activities (Qin *et al.*, 2019), antihypercholesterolemic effect (Wu *et al.*, 2014). 5,6-dihydroconstrictosine, Jatrorrhi-zine and berberine interacts whit many hydrophobic interactions with the spike protein residues. It also formed hydrogen bonds. Many of these interactions of different nature were established in the RBD region of S glycoprotein. For this reason, we consider that they three compounds are the most promising compound with potential to inhibit spike protein.

For RNA polymerase RdRp the best values of binding energies were for Berlambine -9.04 kcal /mol, Canadine -8.99 kcal / mol and berberine -8.90 kcal / mol. Other studies evaluated the synthetic compounds rivavirin, tenofovir, sofosbuvir, IDX 184, setrobuvir and YAK as possible inhibitors of RNA polymerase RdRp with binding energy values of (-7.8, -6.9, -7.5, -9.0, -9.3 and - 8.4 kcal / mol respectively) (Elfiky, 2016) and azafluorene derivates (Venkateshan *et al.*, 2020).

The alkaloids with better binding energies berlambine, canadine and berberine binding to NSP12 in the active site (Fig. 4). This binding like and any union to its cofactors could affected the correct assembly of the polymerase, preventing its correct functioning. For this we thinking that berlambine, canadine and berberine would be good candidate drugs to be experimentally evaluated against this SARS-CoV-2 polymerase.

In fact, being derived from medicinal plants with ancestral use proven for oral consumption is an important advantage of some natural origin compounds. Should they be administered as part of phytocomplexes, there might be a synergistic effect of the desired activity while potential side effects of the main active compounds, if they were given pure, would be attenuated. This important advantage would facilitate the production and reduce the cost because fewer downstream operations would be needed as there is no need to obtain the high purity product. (Cortés *et al.*, 2004; Sharapin *et al.*, 2000).

CONCLUSIONS

There are already several drugs and vaccines being assessed clinically for SARS-CoV-2. However there is still a need to identify additional treatments as alternatives tha vaccines, since the period of immunity that they generate in the population is unknown and also if we take into account that there

are people who cannot be vaccinated for different reasons. Identifying antiviral drugs from medicinal plants and sintetic drugs with side-effect profiles known by clinicians are very important. In this sence, various protoberberine alkaloids proposed in this work has been from known ancestral uses and many of them are sold as supplements dietary for oral consumption.

Based on the binding energies obtained and that protoberberine alkaloids interact with the key catalytic residues, interaction conformations between the proposed natural compounds and protease Mpro, glycoprotein S and RNA polimerase RdRp proteins are highly possible. In addition, the tested natural compounds performed better than the synthetic antivirals used as controls: nelfinavir and atazanavir, for protease Mpro, umifenovir for S protein and acilovir and emtriacitabine for polymerase RdRp. Thus, the protoberberine alkaloids could be potential active agents for treatment of COVID-19, either alone or as adjunct therapies with other medications found to have antiviral activity in vivo.

This study also contains valuable information to increase the knowledge of certain protoberberine nucleus of compounds with best affinities towards these molecular targets. Furthermore, the present study provides molecular details that allow us to propose structural modifications of some compounds to make the interaction between them and proteins even more effective. Everyday we hope to be better prepared and we know that Effective antiviral treatments can save lives, and we need to have them ready in the future.

ACKNOWLEDGMENTS

The author expresses gratitude to CONICET and acknowledges the contributions of the editor, reviewers, and Cintia Avila for image processing. This work was funded by CONICET.

REFERENCES

Abbas Zaidi, S., Jameel, S., Jafri, K., Khan, S., & Ahmad, E. (2016). Ilaj bil hijamah (cupping therapy) in the Unani system of medicine: anecdotal practice to evidence-based therapy. *Acta Medico*-Historica Adriatica, 14(1) 81-94.

Agrawal, A., Jain N. K., Kumar, N., & Kulkarni, G. T. (2020). Molecular Docking Study to Identify Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease Enzyme: An In-Silico Approach. Chem *Rxiv*. https://doi.org/10.26434/chemrxiv.12170904.v1

Alonso, J. (2008). *Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos*. (1° Ed). Reimpr.Corpus Ediciones, Rosario, Argentina.

Anand, K., Ziebuhr, J, Wadhwani, P., Mesters, J. R., & Hilgenfeld, R. (2003). Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: Basis for design of anti-SARS drugs. *Science*, 300, 1763–1767. https://doi.org/10.1126/science.1085658

Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales*. (2° Ed). Editorial ACRIBIA S.A., Argentina.

Camponovo, L., & Bandoni, A. (1995). *Farmacología: Materia Médica y Terapéutica*. Buenos Aires: López Etchegoyen Libreros Editores, Argentina.

Cecil, C. E., Davis, J. M., Cech, N. B., & Laster, S. M. (2011). Inhibition of H1N1 influenza A virus growth and induction of inflammatory mediators by the isoquinoline alkaloid berberine and extracts of goldenseal (*Hydrastis canadensis*). *International Immunopharmacology*, 11(11), 1706-1714. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2011.06.002

Cortés Gallardo, V., Macedo Ceja, J., Hernández Arroyo, M., Arteaga Aureoles, G., Espinoza Galván, D., & Rodriguez Landa, J. (2004). Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. *Revista Biomedica*, 15, 123-136. https://doi.org/10.32776/revbiomed.v15i2.381

Detoc, M., Bruel, S., Frappe, P., Tardy, T., Botelho-Nevers, E., & Gagneux-Brunon, A. (2020). Intention to participate in a COVID-19 vaccine clinical trial and to get vaccinated against COVID-19 in France during the pandemic. *Vaccine*, 38(45) 7002-7006. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.09.041

Devaux, C. A., Rolain, J. M., Colson, P., & Raoult, D. (2020). New insights on the antiviral effects of chloroquine against coronavirus: what to expect for COVID-19. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5):105938. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105938

Doublie, S., & Ellenberger, T. (1998). The mechanism of action of T7 DNA polymerase. *Current Opinion in Structural Biology*, 8(6):704-12. https://doi.org/10.1016/s0959-440x(98)80089-4

Elfiky, A. A., & Ismail A. (2019). Molecular dynamics and docking reveal the potency of novel GTP derivatives against RNA dependent RNA polymerase of genotype 4a HCV. *Life Sciences*, 238, 116958. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116958

Elfiky, A. A., & Elshemey, W. M. (2018). Molecular dynamics simulation revealed binding of nucleotide inhibitors to ZIKV polymerase over 444 nanoseconds, *Journal of Medical Virology*, 90(1), 13-18. https://doi.org/10.1002/jmv.24934

Elfiky, A. A., & Elshemey, W. M. (2016). IDX-184 is a superior HCV direct-acting antiviral drug: a QSAR study, *Medicinal Chemistry Research*, 25(5):1005-1008. https://doi.org/10.1007/s00044-016-1533-y

Enkhtaivan, G., Kim, D. H., Park, G. S., Pandurangan, M., Nicholas, D. A., Moon, S.H., Kadam, A.A., Patel, R.V., Shin, H. S., & Mistry, B.M. (2018). Berberine-piperazine conjugates as potent influenza neuraminidase blocker. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119, 1204–1210. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.047

Ganesan, A., & Barakat, K. (2017). Applications of computer-aided approaches in the development of hepatitis C antiviral agents, *Expert Opin. Drug Discovery*, 12(4), 407-425. https://doi.org/10.1080/17460441.2017.1291628

Hall, D. C., & Ji, H. F. (2020). A search for medications to treat COVID-19 via in silico molecular docking models of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein and 3CL protease. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 35, 101646. https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101646

Hilgenfeld, R. (2014). From SARS to MERS: Crystallographic studies on coronaviral proteases enable antiviral drug design. *The FEBS Journal*., 281, 4085–4096. https://doi.org/10.1111/febs.12936

Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Krüger, N., Müller, M., Drosten, C., & Pöhlmann (2020). The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells. *BioRxiv*.The preprint server for biology. https://doi.org/10.1101/2020.01.31.929042

Horden, P. and Kukita Yoshikawa, Naoë (2016). *Medicine, Religion and Gender in Medieval Culture*., 60(3), 441-442.

Hung, T.-C., Jasse, A., Liu, C.- H., Lin, Ch.-J., Lin, Ch.- Ch., Wong, S. H., Wang, J. Y., Yen, M.- H., & Lin, L.- T. (2018). Berberine inhibits hepatitis C virus entry by targeting the viral E2 glycoprotein. *Phytomedicine*, 53, 62-69. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.09.025

Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., Zhang, B., Li, X., Zhang, L., Peng, C., Duan, Y., Yu, J., Wang, L., Yang, K., Liu, F., Jiang, R., Yang, X., You, T., Liu, X., Yang, X., Bai, F., Liu, H., Liu, X., Guddat, L.W., Xu, W., Xiao, G., Qin, Ch., Shi, Z., Jiang, H.,Rao, X., & Yang, H., (2020). Structure of Mpro from SARS-CoV-2and discovery of its inhibitors. *Nature*.582, 289-293. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y.

Joshi, T., Joshi, T., Sharma, P., Mathpal, S., Pundir, H., Bhatt, V., & Chandra, S. (2020). In silico screening of natural compounds against COVID-19 by targeting Mpro and ACE2 using molecular docking. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 24(8), 4529–4536. https://doi.org/10.26355/eurrev_202004_21036

Joshi, T., Bhat, S., Pundir, H., & Chandra, S. (2021). Identification of Berbamine, Oxyacanthine and Rutin from *Berberis asiatica* as anti-SARS-CoV-2 compounds: An in silico study. *Journal of Molecular Graphics & Modelli*ng, 109, 108028. https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2021.108028

Kaur, S. P., & Gupta, V. (2020). COVID-19 Vaccine: A comprehensive status report. *Virus Research*, 288, 198114. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198114.

Khaerunnisa, S., Kurniawan, H., Awaluddin, R., Suhartati, S., & Soetjipto, S. (2020). Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease (Mpro) from Several Medicinal Plant Compounds by Molecular Docking Study. Preprints.org. https://doi.org/10.20944/preprints202003.0226.v1

Kirchdoerfer, R. N., & Ward, A. B. (2019). Structure of the SARS-CoV nsp12 polymerase bound to nsp7 and nsp8 co-factors. *Nature communication*, 10, 2342. https://doi.org/10.1038/s41467-019-10280-3

Leitao Da-Cunha, E. V., Fechine, I. M., Guedes, D. N., Barbosa-Filho, J. M., & Sobral Da Silva, M. (2005). *Protoberberine alkaloids*. The Alkaloids, Vol. 62. https://doi.org/10.1016/S1099-4831(05)62001-9

Liu, C., Tang, J., Ma, Y., Liang, X., Yang Y, Peng, G., Qi, Q., Jiang, S., Li, J., Du, L., & Li, F. (2015). Receptor usage and cell entry of porcine epidemic diarrhea coronavirus. *Journal of Virology*, 89(11), 6121–6125. https://doi.org/10.1128%2FJVI.00430-15

Macchiagodena, M., Pagliali, M., & Procacci, P. (2020). Identification of potential binders of the main protease 3CLpro of the COVID-19 via structure-based ligand design and molecular modeling. *Chemical Physics Letters*, 750, 137489. https://doi.org/10.1016/j.cplett.2020.137489.

Malika, A. A., McFaddena, S. M., Elharakea, J., & Omera, S. B. (2020). Determinants of COVID-19 vaccine acceptance in the US. *EClinicalMedicine*, 26, ID 100495. https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2020.100495

Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). Software News and Updates. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785-2791. https://doi.org/10.1002/jcc.21256

Qin, Q.- P., Zou, B.-Q., Wang, Z.- F., Huang, X.- L., Zhang, Y., Tan, M.- X., Wang, S.- L., & Liang, H. (2019). High *in vitro* and in vivo antitumor activities of luminecent platinum (II) complexes with jatrorrhizine derivative. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 183, 111727. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111727

Rastrelli, L., Capasso, A., Pizza, C., De Tommasi, N., & Sorretino, L. (1997). New Protopine and Benzyltetrahydroprotoberberine Alkaloids from Aristolochia constricta and Their Activity on Isolated Guinea-Pig Ileum. *Natural Products* 60,11, 1065-1069. https://doi.org/10.1021/np960710b

Roy, A., & Saraf, S. (2006). Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(2), 191-201.

Sharapin, N., Machado, L., Souza, E., de Albuquerque, E., Valverde, E., & López, J. M. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Santa Fe de Bogotá, Convenio Andrés Bello y Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO) del subprograma X de CYTED. Pp 248. España.

Shin, H.-B., Choi, M.-S., Yi, C.-M., Lee, J., Kim, N.-J., & Inn, K.-S. (2015). Inhibition of respiratory syncytial virus replication and virus-induced p38 kinase activity by berberine. *International Immunopharmacology*, 27, 65–68. http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2015.04.045

Sun, Y., Gao, X., Wu, P., Wink, M., Li, J., Dian, L., & Lian, Z. (2019). Jatrorrhizine inhibits mammary carcinoma cells by targeting TNIK mediated Wnt/β-catenin signalling an depithelial-mesenchymal transition (EMT). *Pythomedicine*, 63,153015. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.153015

Tallei, T. E., Tumilaar, S. G., Niode, N. J., Fatimawali, Kepel, B. J., Idroes, R., Effendi, Y., Sakib, S.A., & Emran, T. B. (2020). Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors: A Molecular Docking Study. *Scientifica*, ID 6307457. https://doi.org/10.1155/2020/6307457

Venkateshan, M., Muthu, M., Suresh, J., & Ranjith Kumar, R. (2020). Azafluorene derivatives as inhibitors of SARS CoV-2 RdRp: Synthesis, physicochemical, quantum chemical, modeling and molecular docking analysis. *Journal of Molecular Structure*, 1220, 128741. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128741

Walls, A. C., Tortorici, M. A., Bosch, B. J., Frenz, B., & Rottier, P. J. (2016). Cryo-electron microscopy structure of a coronavirus spike glycoprotein trimer. *Nature*, 531, 114–117. https://www.nature.com/articles/nature16988

Wang, W. J., Yang, T., Chen, H., Xu, Y. N., Yu, L. F., Liu, T., Tang, J., Yi, Z., Yang, C.G., Xue, W., & Yang, F. (2017). The synthesis and antistaphylococcal activity of 9, 13-disubtituted berberine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 127,424-433. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.01.012

White, N. J., Pukrittayakamee, S., Hien, T. T., Faiz, M. A., Mokuolu, O. A., & Dondorp, A. M. (2014) Malaria. *Lancet*, 383:723–35.

Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, C. L., Abiona, O., Graham, B. S., & McLellan, J. S. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 367(6483), 1260-1263. http://dx.doi.org/10.1126/science.abb2507

Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y.-M., Wang, W., Song, Z.-G., Hu, Y., Tao, Z. W., Tian, J.-H., Pei, Y.-Y., Yuan, M.-L., Zhang, Y.-L., Dai, F.-H., Liu, Y., Wang, Q.-M., Zheng, J.-J., Xu, L., Holmes, E. C., & Zhang, Y.-Z. (2020). A New coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579, 265–269. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3

Wu, H., Heb, K., Wang, Y. Z., Xue, D. F., Ning, N., Zou, Z., Ye, X., Li, X., Wang, D. Z., & Pan, J. (2014). The antihypercholesterolemic effect of jatrorrhizine is olated from Rhizoma Coptidis. Phytomedicine. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.05.002

Yang, L., Wen, K.S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 762. https://doi.org/10.3390/molecules23040762

Zhang, L., Lin, D., Sun, X., Curth, U., Drosten, C., Sauerhering, L., Becker, S., Rox, K., & Hilgenfeld, R. (2020). Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α-ketoamide inhibitors. *Nature*. http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2223

Zhou, P., Yang, X.L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. D., Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, W., Zheng, X. S., Zhao, K., Chen, Q. J., Deng, F., Liu, L. L., Yan, B., Zhan, F. X., Wang, Y. Y., Xiao, G. F., & Shi, Z. L. (2020). A. Pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579, 270–273. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7

REVISTA
CIENCIAS NATURALES
Facultad de Ciencias Naturales · Universidad Nacional de Salta

e-ISSN 2953-5441
Vol. 2(1): 22-35

ARTÍCULO

Estudio fisiológico de *Canna indica* (Cannaceae), una Fuente Alimenticia, en Medios de Cultivo no Convencionales

Physiological Study of *Canna indica* (Cannaceae), a Food Source for the non conventional Cultivation

Marcelo P. Hernández[2, 3, 4, 6*], Marcela F. Ruscitti[1, 2, 5], Felipe S. Calonge[2], Alejanda V. Carbone[1, 2] & Jorge E. Bueno Prieto[6]

[1] Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE-CONICET). [2] Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAyF), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), calle 60 entre 116 y 119, (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina. [3] Facultad de Ciencias Naturales y Museo (FCNyM-UNLP), calle 60 y 122, (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina. [4] Museo de Ciencias Naturales (UNLP), Paseo del Bosque s. n. (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina. [5] Departamento de Ciencias Básicas y Experimentales, Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), (6000) Junín, Buenos Aires, Argentina. [6] Instituto de Astrobiología de Colombia (IAC), Calle 93 B, N° 18-12, (110221) Bogotá, Colombia. *marcelo.hernandez@agro.unlp.edu.ar

Resumen

Canna indica, originaria de América tropical, es una hierba perenne y rizomatosa con gran valor nutricional, medicinal (rizomas), forrajera (rizomas y follaje molidos) y ornamental. Nuestro objetivo fue hallar un sustrato óptimo para el cultivo de esta especie, con fines alimenticios, en condiciones no aptas para un cultivo convencional. Las plantas se cultivaron en un invernáculo, entre los meses de septiembre y diciembre del año 2018, en macetas de 13,5 L, utilizando diferentes sustratos: arena, hidroponía en solución de Hoagland perlita, tierra y vermiculita. En cada maceta se colocaron dos fragmentos de rizoma de 10 x 3,0-4,0 cm, con tres repeticiones por tratamiento. Se evaluaron los siguientes parámetros: altura alcanzada de la parte aérea (tallo, hoja, inflorescencia y fruto); área foliar; peso fresco y peso seco de la parte subterránea (raíz y rizoma) y de la parte aérea (tallo, hoja, inflorescencia e infrutescencia); clorofila a, b, total y carotenos (tallo y hojas); albúminas (rizomas); y densidad de granos de almidón (rizomas). Los resultados se analizaron mediante el software Statistica 7.0. Al finalizar el ensayo, las plantas que lograron un mayor crecimiento, con formación de frutos maduros, fueron las cultivadas en los sustratos hidroponía en solución y vermiculita.

Palabras clave: Almidón, Ambientes extremos; *Canna indica*; Hidroponía; Planta alimenticia

Abstract

Canna indica is a perennial and rhizomatous herb, native to tropical America. It has great nutritional value, with edible rhizomes which are rich in fiber, and also possessing amylase and shoots, which are rich in protein. Likewise, it has medicinal (rhizomes), forage (ground rhizomes and foliage) and ornamental importance. Our objective was to find an optimal substrate for the cultivation of this species, for food purposes, in conditions not suitable for conventional cultivation. The plants were grown in a greenhouse, between the months of September and December, 2018, in 13.5 L pots, using the following substrates: sand, hydroponics solution (Hoagland), perlite, soil and vermiculite. Two rhizome fragments of 10 x 3.0-4.0 cm were placed in each substrate type, with three repetitions per treatment. The following parameters were evaluated: periodic increase in height of the aerial part (stem, leaf, inflorescence and fruit); leaf area; fresh weight and dry weight of the underground part (root and rhizome), and the aerial part (stem, leaf, inflorescence and infructescence); total chlorophyll a, b, and carotenes (stem and leaves); albumins; and density of starch grains (rhizomes). The results were analyzed using Statistica 7.0 software. At the end of the test, the plants with the greatest growth, with the formation of mature fruits, were those grown in the hydroponics substrates in solution and vermiculite.

Keywords: *Canna indica*; Extreme environments; Food plant; Hydroponics, Starch

Hernández, M. P., Ruscitti M. F., Calonge F. S., Alejanda. Carbone, V., & Bueno Prieto J. E. (2024). Estudio Fisiológico de Canna indica (Cannaceae), una Fuente Alimenticia, en Medios de Cultivo no Convencionales. Revista Ciencias Naturales, 2(1), 22–35.

Recibido: 2/10/2023 Aceptado: 13/3/2024 Publicado: 15/3/2024 Editora: Ana Zelarayán

INTRODUCCIÓN

Canna indica L. "achira" (Cannaceae) es una hierba terrestre, hidrófila y rizomatosa, de hasta 2 m de altura, originaria de América tropical (México, Las Antillas, Centro y Sudamérica hasta la Argentina). Su domesticación se extendió desde Colombia a lo largo de Los Andes hasta Perú, siendo utilizada por los Incas 5.700 años atrás. Actualmente se cultiva en algunos lugares de Colombia y Asia como fuente alimenticia (Pochetino, 2015), por su gran valor nutricional. Sus rizomas contienen un 75 % de agua y un alto contenido de fibras (Barrera *et al.*, 2004). Popenoe *et al.* (1990), mencionan que la materia seca del rizoma, presenta un 75-80 % de almidón, 6-14 % de azúcar (principalmente glucosa y sacarosa), 1-3 % de proteínas y un alto contenido de potasio, y 10 % de proteínas, en sus hojas y brotes.

Los brotes se consumen como vegetales verdes (Popenoe *et al.*, 1990). Los rizomas ricos en almidón, se consumen hervidos, a las brasas o fritos (Rapoport *et al.*, 2009). Su harina sirve para la fabricación de bizcochos, bizcochuelos, colaciones (harina más queso), fideos, galletas, panes, pastas comestibles, tortas, etc. (Martínez Crovetto, 1981; Espinosa *et al.*, 1997; Rapoport *et al.*, 2009). Es importante destacar que el almidón de esta planta posee un alto contenido de amilosa (Yaruro Cáceres *et al.*, 2021).

En famacología esta especie constituye un agente nutricional infantil, siendo además, antibacteriano, antiabortivo, antialérgico, anticancerígeno, antihemorrágico nasal, antimalárico, antiséptico, antioxidante, astringente, contra úlceras, contra ictericia aguda, digestivo, diurético y emoliente (Martínez Crovetto, 1981; Romero Vásquez & Valdez Valles, 2016; Cañar Inga & Paguay Verdugo, 2017). En medicina tradicional, la decocción de los rizomas, en tomas, tiene efecto abortivo, antiasmático, antiblenorrágico, antinefrítico, antirreumático, diurético, emenagogo y emoliente (Martínez Crovetto, 1981, Marzocca, 1993; Hernández *et al.*, 2010).

Los rizomas y follaje molidos son utilizados como alimento para el ganado (Popenoe *et al.*, 1990). Por su porte y elegancia, se cultiva como planta ornamental (Hurrell *et al.*, 2005), utilizada como cerco vivo y como cortina protectora de viento (Popenoe *et al.*, 1990).

Gómez (2016), menciona que la existencia de vida tal como la conocemos, basada en carbono, dependerá de los rangos de los parámetros físico-químicos ambientales que sea capaz de soportar, es decir, a los límites que le impone el carbono y, más concretamente, los que le imponen los enlaces covalentes que el carbono establece consigo mismo o con otros elementos que forman parte de los sistemas vivos. De esta manera, un ambiente natural extremo, es aquel caracterizado por una o varias condiciones físico-químicas hostiles para el desarrollo de la vida. En este contexto, se han hallado organismos criófilos (a -12 ºC), termófilos (entre los 121 ºC y los 130 ºC), acidófilos, alcalófilos, barófilos, xerófilos y resistentes a elvadas radiaciones (Gómez, 2016). Según MacElroy (1974), los organismos que habitan estos ambientes extremos se denominan "extremófilos". Algunas poblaciones humanas viven en ambientes terrestres extremos, tales como: la Localidad Tolar Grande (Grau *et al.*, 2018) y la Base Antártica Belgrano II (Tortello, 2020), en Argentina, y el Desierto de la Tatacoa en Colombia (Rendón, 2012; Bueno Prieto & Martínez Frías, 2021).

La localidad de Tolar Grande, se sitúa en la provincia de Salta, entre los 3.700 y 4000 m s.m. en un desierto de altura denominado "Puna Seca" (Grau *et al.*, 2019; Hernández *et al.*, 2019; Hernández *et al.*, 2020). Presenta suelo muy pobre en materia orgánica, arenoso-pedregoso, con alto contenido de sales solubles y arcillas con capas de yeso superficial. Su clima es frío y seco, con temperatura mínima en invierno de hasta -15ºC, y en verano, con máximas promedio de 15ºC y mínimas por debajo de los 0ºC. (Cabrera, 1976; Hernández *et al.*, 2019).

La Base Antártica Belgrano II, situada al S del mar de Weddell, en el nunatak Bertrab

en la costa Confín, Tierra de Coats, en los 77º 51' S y 34º 33' O, es la estación permanente argentina más austral. Esta zona, en ocasiones azotada por vientos superiores a 200 Km/h, presentan un suelo cubierto por nieve, con temperatura máxima -2ºC y la mínima -54ºC.

El Desierto de La Tatacoa, situado en el departamento del Huila a 440 m s.n., está constituido por dos ecosistemas Bosque Seco Tropical y Bosque Muy Seco Tropical, con suelo de origen ígneo y sedimentario, y temperatura promedio entre 28°C y 40°C (Figueroa Cardozo & Galeano, 2004; Florez-Molina, *et al.* 2018). A pesar de las condiciones extremas de su ecositema, la presencia de poblaciones humanas son históricas, teniendo registros previos a la conquista en 1492 (Monje, 2001).

Estos lugares presentan algunas características análogas a algunas superficies extraterrestres (Bueno Prieto & Martínez Frías, 2021). También la Estación Espacial Internacional (EEI), tiene condiciones ambientales extremas, donde el cultivo de plantas cumple un rol fundamental para la supervivencia de sus habitantes (Medina, 2020).

La creciente demanda de alimentos ha ocasionado que la agricultura sea introducida en ecosistemas frágiles, propensos a la degradación y contaminación, con la consiguiente disminución de la productividad (Chavarría-Torrez & Castillo-Castro, 2018). Un cultivo tradicional constituye la forma frecuente de hacer agricultura, donde las plantas crecen en un suelo provisto de elementos nutritivos, a diferencia de un cultivo no tradicional, como por ejemplo la hidroponía en la cual las plantas crecen en soluciones nutritivas o en sustratos donde se le aportan los nutrientes en cantidades adecuadas, lo que conlleva al desarrollo de cultivos sanos en espacios relativamente menores en comparación con la agricultura tradicional (Antillón, 2004; Beltrano & Giménez, 2015).

En la actualidad, existen nuevas alternativas para la producción de plantas, una de estas es la hidroponía, que utiliza un sustrato estéril, inorgánico y controlado, eliminando la necesidad del suelo, reduce la erosión, el desgaste por fertilizantes y productos fitosanitarios. Además disminuye la incidencia de enfermedades radiculares de las plantas (Beltrano & Giménez, 2015).

La hidroponía ha sido empleada por muchas compañías petroleras y mineras que trabajan en lugares remotos e inhóspitos, en donde la agricultura tradicional no permitiría garantizar la producción de vegetales para su personal. De esta manera se conocen emprendimientos de esta clase en el Lejano Oriente, en el desierto de Sahara, en la Antártida, e incluso, fuera de nuestro planeta. Asi en la década del 80, la Administración Nacional de Aeronáutica y el Espacio (NASA) realizó diversas investigaciones en el tema con la dirección del reconocido fisiólogo Fran Salisbury (Beltrano & Giménez, 2015); también las plantas han demostrado la potencialidad y habilidad de crecer y reproducirse en vehículos espaciales y en la EEI (Cowles, 1989; Ivanova *et al.*,1993; Paradiso *et al.*, 2014; Ruyters & Braun, 2014; Jost *et al*., 2015; Musgrave, 2007), siendo componente importante de los sistemas de soporte vital.

Las propiedades nutricionales de *C. indica* la convierten en una de las plantas alimenticias que podrían cultivarse en ambientes extremos en la superficie terrestre u otra semejante.

El objetivo de este trabajo fue hallar un sustrato óptimo para el cultivo de *C. indica*, en condiciones no aptas para un cultivo convencional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el mes de agosto del año 2018, se obtuvieron manualmente 30 fragmentos de rizomas de *C. indica* situados en el Jardín Botánico y Arboretum "Carlos Spegazzini" de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP); asimismo, la parte aérea de los rizomas fue herborizada y depositada en el herbario LPAG (Thiers, 2023) de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata

con los siguientes datos: *Canna indica* L. ARGENTINA. Prov. Buenos Aires, Pdo. La Plata, La Plata, Jardín Botánico y Arboretum "C. Spegazzini", 20-09-2018, Hernández M. P. 170 ,171, 172, 173 (LPAG).

Fragmentos de rizomas fueron cultivados entre los meses de septiembre a diciembre de 2018 en el invernáculo del Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE-UNLP), en condiciones semicontroladas de temperatura por ventilación forzada (20°-35°C) y con fotoperíodo natural para las coordenadas: S34°54´45,17´´W57°55´52, 87´´. Se utilizaron 15 macetas de 13,5 L con los siguientes tratamientos: hidroponía en solución con sistema de aireación, perlita, vermiculita, arena y tierra. En cada maceta se colocaron dos fragmentos de rizoma de 10 X 3-4 cm, con tres repeticiones por tratamiento. Para el tratamiento hidroponía en solución se utilizó solución de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1938) que fue renovada cada 15 días. Los sustratos perlita, vermiculita y arena, se regaron con solución de Hoagland; el sustrato tierra (tratamiento testigo) se regó con agua destilada. En todos los casos las macetas fueron regadas cada 48 hs. Finalizado el ensayo, 100 días después (Fig. 1), se evaluaron los siguientes parámetros:

a. Altura final alcanzada de la parte aérea (tallo, hoja, inflorescencia y fruto), mediante uso de cinta métrica.

b. Área foliar (AF), determinada con el medidor Licor Li-3000.

c. Peso fresco de la parte subterránea "raíz-rizoma" (PFR), peso fresco de la hoja (PFH) y peso fesco de tallo-flor-fruto (PFT). El material fresco se pesó utilizando una balanza gravimétrica.

d. Peso seco de la parte subterránea "raíz y rizoma" (PSR), peso seco de la hoja (PSH) y peso seco de tallo-flor-fruto (PST). El material se colocó en una estufa a 72ºC durante 4 días hasta lograr un peso constante; se utilizó una balanza gravimétrica.

e. Clorofila a, b, total y contenido de carotenoides en tallo y hoja. Se utilizó la técnica de Wellburn (1994).

f. Albúminas en rizomas. Se utilizó la técnica de Bradford (1976).

g. Densidad de granos de almidón por mL de agua destilada en rizomas. Se utilizó una solución acuosa realizada a partir de 1 cm^3 de parénquima desmenuzado en 10 mL de agua destilada (D'Ambrogio, 1986; Hernández & Arambarri, 2019).

Los datos obtenidos se analizaron mediante el software Statgraphics Centurion XVI.

RESULTADOS

Las plantas con mayor crecimiento, que presentaron mejor respuesta en los parámetros fisiológicos analizados y que cumplimentaron su ciclo de vida con formación de frutos maduros, fueron aquellas cultivadas en los tratamientos hidroponía en solución y vermiculita (Figs. 2, 3, Tabla 1)

a. Altura final alcanzada

Las plantas que crecieron en la solución de Hoagland (hidroponía) presentaron el mayor valor de altura, con diferencias significativas frente a las plantas que crecieron en arena, vermiculita y perlita. Con las plantas que crecieron en tierra no mostraron diferencias significativas, que fue el siguiente tratamiento en mostrar mejor respuesta en este parámetro (Fig. 3, Tabla 1).

b. Área foliar

El área foliar de las plantas de *C. indica* presentó diferencias significativas entre los tratamientos realizados. Las plantas que crecieron en hidroponía presentaron mayor área foliar, mostrando diferencias significativas con los tratamientos perlita, arena y tierra. El sustrato vermiculita presentó un valor elevado de área foliar, sin diferencias significativas con las plantas que crecieron en solución nutritiva (Tabla 1).

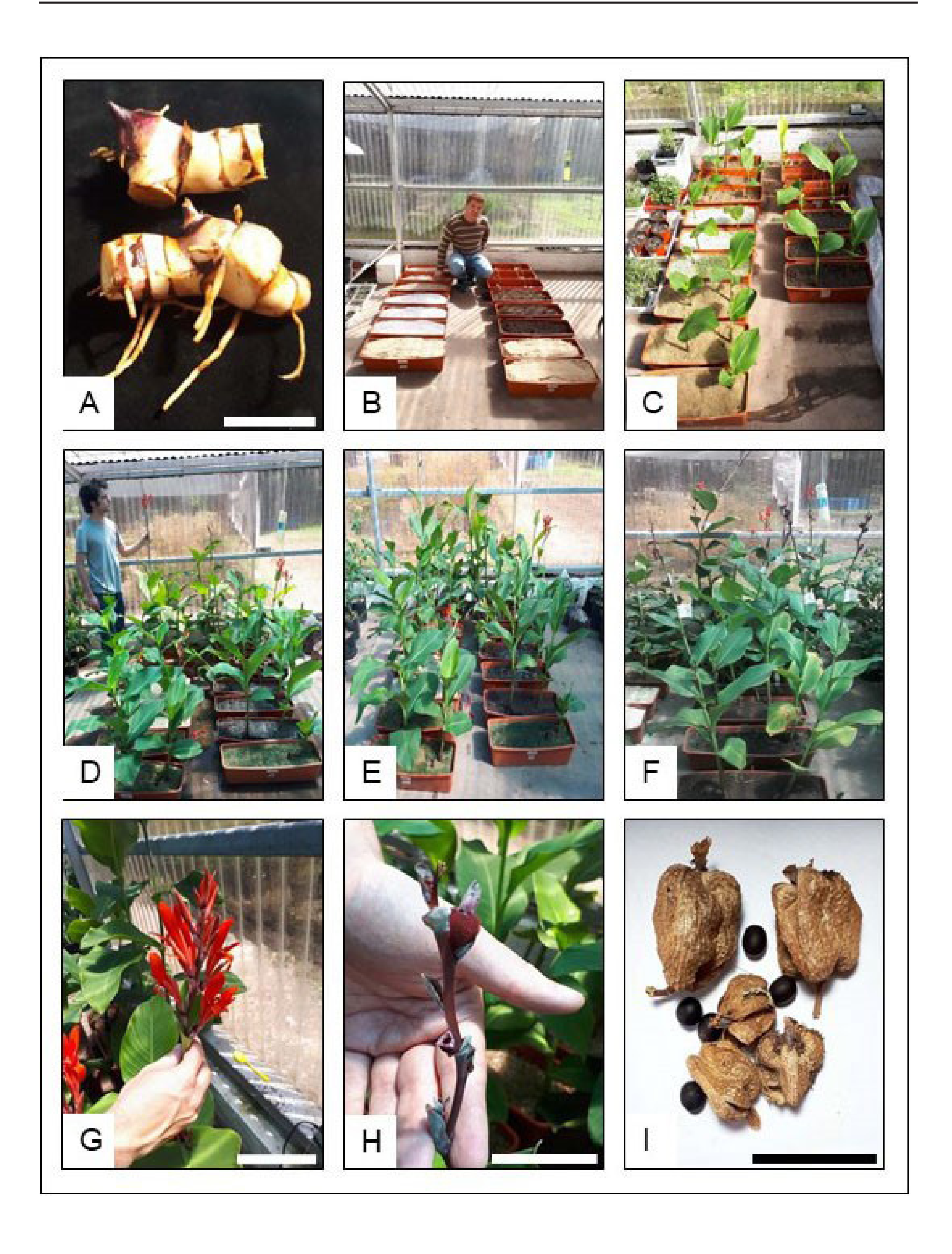


Figura 1. Etapas del ensayo de cultivo. **A.** fragmentos de rizoma para cultivo. **B.** Etapa inicial del ensayo (22-VIII). **C.** Crecimiento de las plantas (08-X). **D.** Crecimiento de las plantas (02-XI). **E.** Crecimiento de las plantas (12-XI). **F.** Crecimiento de las plantas (21-XI). G. Floración (01-XII). **H.** Comienzo de la fructificación (01-XII). **I.** Obtención de frutos y semillas a los (20-XII). Escala: 5 cm.

c. Peso fresco

El PFR fue mayor al PFT y PFH, luego sigue el PFT con diferencias significativas según el tratamiento (Fig. 4).

El PFH fue mayor en las plantas que crecieron en hidroponía, presentando diferencias significativas con el resto de los tratamientos; igual respuesta se observó en el PFT (Fig. 4).

En el caso de los órganos subterráneos el comportamiento fue diferente; el mayor valor de PFR se observó en el tratamiento con vermiculita como sustrato, seguido de perlita e hidroponía; el valor más bajo de PFR se registró en arena con diferencias significativas con el tratamiento de vermiculita (Fig. 4).

d. Peso seco

La variable PS presentó un comportamiento similar al observado para el PF (Figs. 4, 5).

El PSH no presentó diferencias significativas entre los tratamientos (Fig. 5). Sin embargo, el PST presentó mejor respuesta en plantas obtenidas hidroponía con diferencias significativas respecto al resto de los tratamientos (Fig. 5). Por otro lado, el PSR tuvo su valor más alto en el tratamiento con vermiculita, seguido del tratamiento de perlita, hidroponía y tierra; solo se observaron diferencias significativas con el tratamiento de arena, que fue el más bajo (Fig. 5).

e. Clorofila a, b, total y carotenoides

El contenido de clorofila a fue significativamente mayor en las plantas que crecieron en hidroponía, perlita y arena, respecto a las que crecieron en tierra y vermiculita (Fig. 6). Una respuesta similar se observó en el contenido de clorofila total y carotenos, mientras que el contenido de clorofila b fue significativamente mayor en hidroponía y perlita, respecto a tierra (Fig. 6).

f. Proteínas

El contenido de proteínas solubles en agua extraídas de los órganos subterráneos fue mayor en las plantas que crecieron en vermiculita y el valor más bajo observado fue en hidroponía, con diferencias estadísticamente significativas; el resto de los tratamientos mostraron valores intermedios y sin diferencias estadísticas (Tabla 1).

g. Densidad de granos de almidón

La densidad de granos de almidón de los rizomas de las plantas de *C. indica* presentó diferencias significativas entre los tratamientos ensayados. La mayor densidad de granos de almidón se observó en las plantas que crecieron en vermiculita e hidroponía; con valores significativamente menores siguió el tratamiento tierra, perlita y arena (Tabla 1).

Tratamientos	Altura (cm)	Área Foliar (cm^2)	Proteínas ($mg.g^{-1}$ PF)	Densidad granos de almidón (nº de granos de almidón. mm^{-2})
Perlita	72,5 a	1490,34 a	7,61 ab	472222 a
Vermiculita	92,42 ab	3667,63 ab	8,81 b	776083 b
Arena	93,0 ab	1517,78 a	7,08 ab	430556 a
Tierra	109,1 ab	1691,18 a	7,13 ab	568700 a
Hidroponía en solución	132,0 b	6494,69 b	6,37 a	726042 b

Tabla 1. Altura, área foliar, contenido de proteínas y densidad de granos de almidón de plantas de *Canna indica*, que crecieron en diferentes sustratos. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p<0,05$).

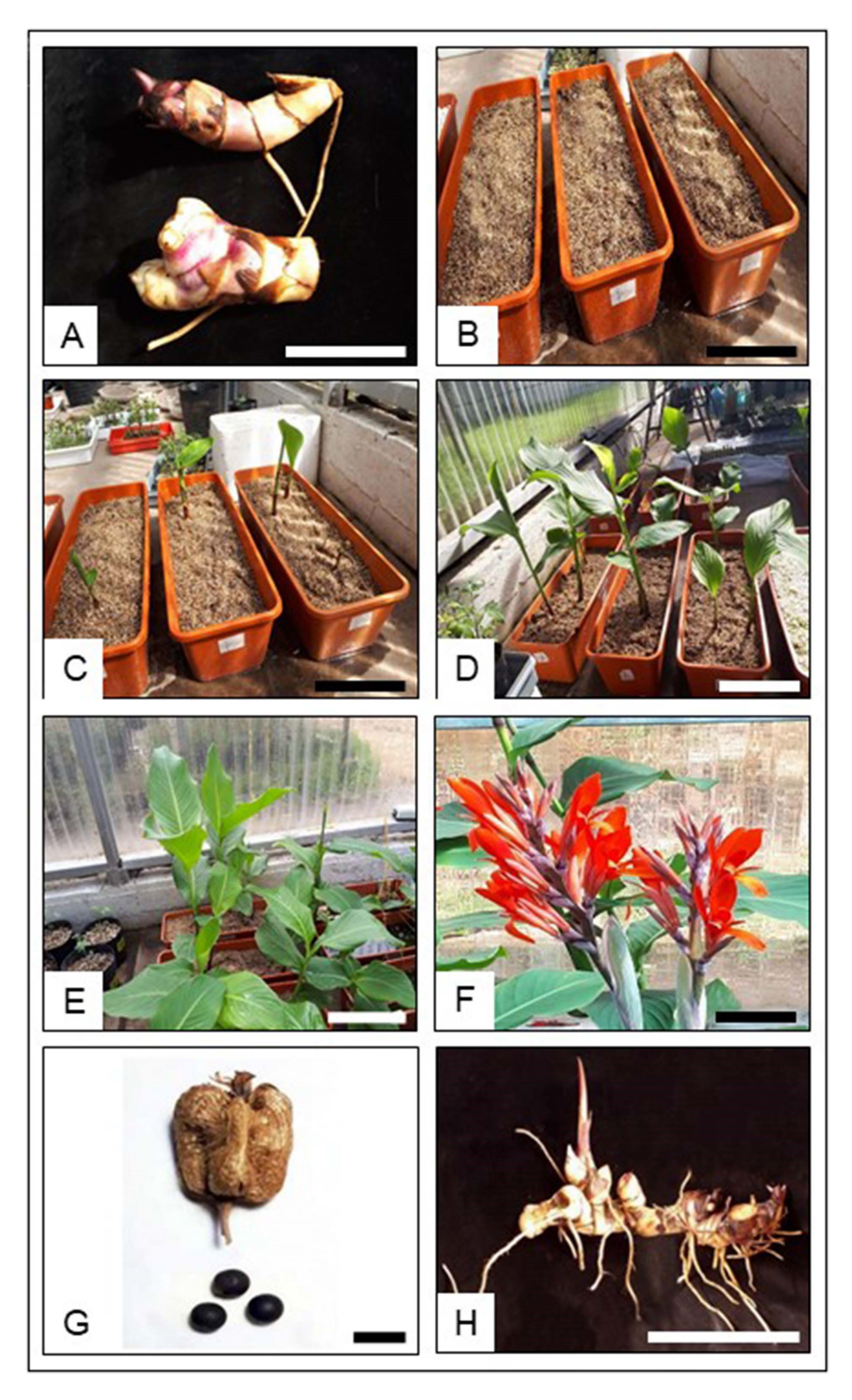


Figura 2. Sustrato vermiculita. **A.** Fragmentos de rizoma para cultivo. **B.** Macetas con el sustrato (22 agosto). **C.** Parte aérea de las plantas (20 setiembre). **D.** Parte aérea de las plantas (4 octubre). **E.** Parte aérea de las plantas (2 noviembre). **F.** Parte aérea de las plantas con floración (21 noviembre). **G.** Producción de frutos (19-XII). **H.** Uno de los rizomas obtnídos al finalizar el ensayo (20-XII). Escalas: A, B, C, D, E y H = 10 cm; F = 5 cm; G = 1cm.

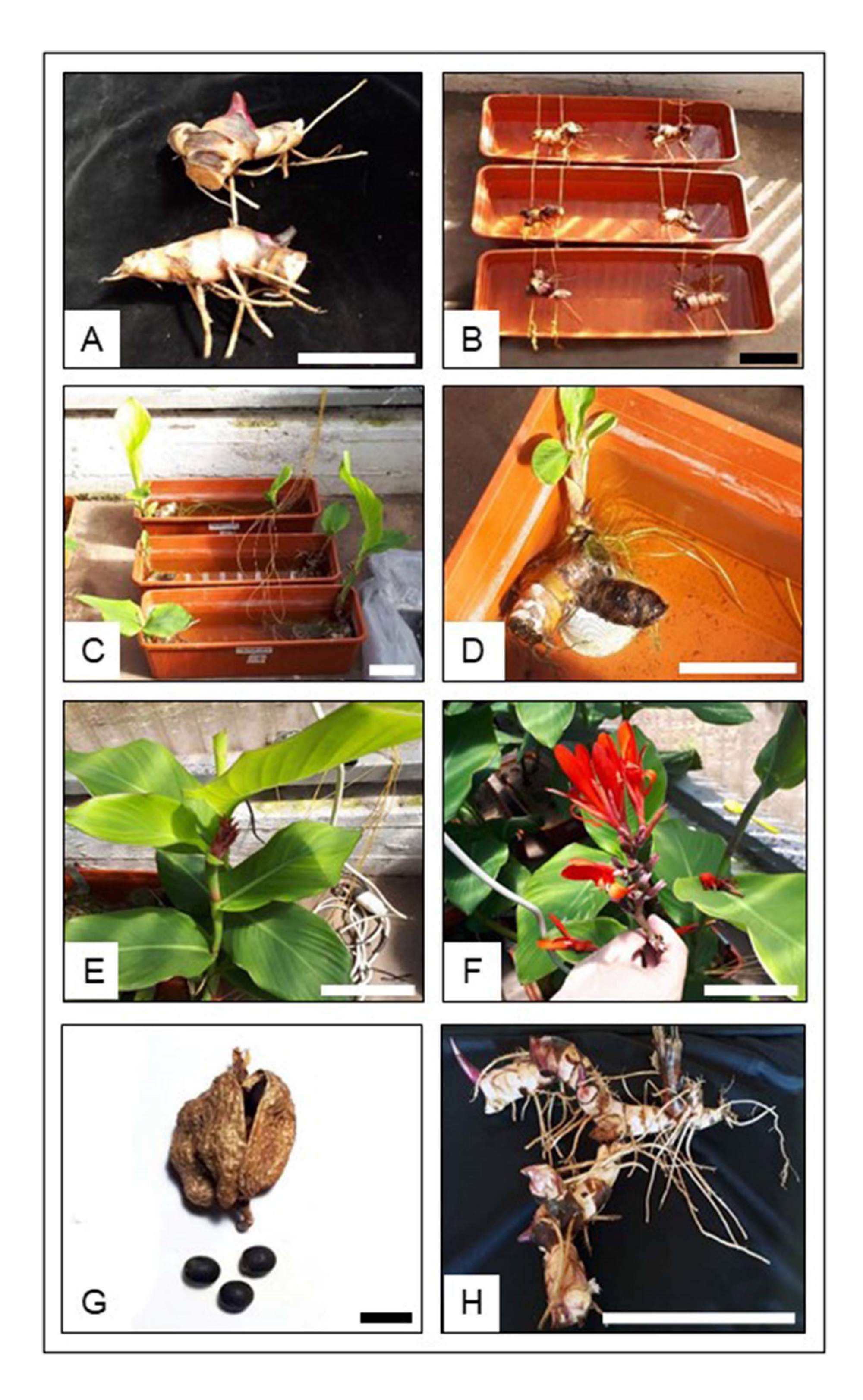


Figura 3. Hidroponía. **A.** fragmentos de rizoma para cultivo. **B.** Etapa macetas con el sustrato (20 agosto). **C.** Parte aérea de las plantas (20 setiembre). **D.** Parte aérea de las plantas (4 octubre). **E.** Parte aérea de las plantas (2 noviembre). **F.** Parte aérea de las plantas con floración (19 diciembre). **G.** Producción de frutos (19 diciembre). **H.** Uno de los rizomas obtenídos al finalizar el ensayo (20 diciembre). Escalas: A, B, C, D, E y H = 10 cm; F = 5 cm; G = 1 cm.

DISCUSIÓN

Popenoe *et. al* (1990) mencionan que *C. indica*, es una de las especies más resistentes para el cultivo alimenticio, pues crece bien hasta los 2.900 m s.m., en una amplia variedad de climas, bajo temperaturas que oscilan entre los 9ºC y 32 ºC, prosperando en distintos tipos de suelo que no son aptos para el cultivo de tubérculos y rizomas, tolerando suelos ácidos a levemente alcalinos (pH 4,5 a 8) con un alto contenido de hierro y óxido de aluminio.

En un cultivo tradicional, los rizomas de esta especie pueden comenzar a cosecharse a los 6 meses de su siembra (momento en el cual, el rizoma es más suculento) o entre los 8-10 meses (cuando presenta tallos florecidos y rizomas de mayor calidad, hinchados al máximo y ricos en fibra).

En condiciones favorables tradicionales, a cuatro meses de la siembra de rizomas, se obtienen 23 tn de rizomas/ha^{-1}, y a los doce meses se obtienen 85 t/ha^{-1}, siendo el rendimiento del almidón de 2 a 10 tn/ha^{-1} (Popenoe *et. al*, 1990).

En este trabajo, mediante el cultivo no convencional, se obtuvieron plantas que realizaron su ciclo de vida en cuatro meses luego de realizada la siembra de segmentos de rizomas, obteniéndose rizomas óptimos para el consumo.

En general, el cultivo comercial tradicional de esta especie no requiere mayores cuidados ni la aplicación de insumos, por ser una planta bastante rústica, excepto riegos durante períodos de sequía prolongados (Tapia & Fries, 2007). Según Morales López (2019) se puede plantar en todo tipo de terreno dando prioridad a suelos ricos, orgánicos y si el suelo posee pocos nutrientes amerita la adición de fertilizantes o compost. En algunos ambientes, cuando se cultiva esta especie para la obtención de almidón, se requiere la aplicación de fertilizantes químicos para obtener un crecimiento y rendimiento adecuado. Estos fertilizantes son de tipo N-P-K, (nitrógeno – fósforo – potasio) siendo frecuente el uso de las fórmulas aplicadas al cultivo de papa (10-30-10, 10-20-20 y 15-15-15), donde el agregado de estos macronutrientes es fundamental para un óptimo crecimiento (Rodríguez Borray *et al.*, 2003). Sin embargo, no existe mucha información del cultivo de esta planta en condiciones de hidroponía, ya sea en solución o en sustrato.

Tal como menciona Beltrano & Giménez (2015), el método no tradicional de cultivos vegetales por hidroponía, reduce la erosión y desgaste de los suelos por la aplicación de fertilizantes y productos fitosanitarios de síntesis química; según los autores, al ser este tipo de cultivo, un ambiente inorgánico controlado, se reduce la aparición de enfermedades radiculares.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, en los parámetros de crecimiento, se observó una respuesta favorable cuando se realizó el cultivo de la achira en hidroponía con solución de Hoagland. La altura de las plantas, el área foliar y los pesos frescos y secos corroboran esta respuesta. *Canna* sp. puede crecer tanto en ambientes terrestres como acuáticos (humedales), pero poco se sabe sobre sus requerimientos nutricionales (Konnerup & Brix, 2010). En este ensayo se utilizó una solución nutritiva convencional con aporte de nitrógeno el cual es esencial para el crecimiento vegetativo de la planta, la formación de nuevas hojas y el aumento de la biomasa aérea. Según el trabajo realizado por Konnerup & Brix (2010) *C. indica* creció bien en solución hidropónica independientemente de la fuente de N utilizada, NH_4^+ o NO_3^-. Ni la partición de biomasa ni los parámetros morfológicos fueron afectados por la fuente de N suministrada.

Como se observó en los resultados obtenidos y en coincidencia con la bibliografía, una correcta formulación de la solución nutritiva permite obtener plantas de mejor tamaño y calidad, así como también mayor tamaño de fruto. En muchos casos, el tiempo de desarrollo de la planta se acorta, como se observó en este trabajo coincidiendo con el cultivo de otras especies como la lechuga (Beltrano & Giménez, 2015).

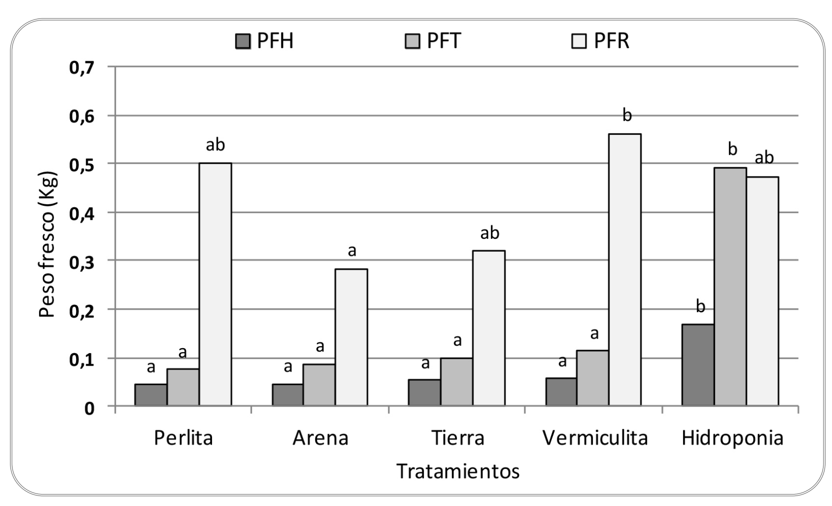


Figura 4. Peso fresco de hojas, tallos y raíces de plantas de *Canna indica* en diferentes sustratos. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (p<0,05).

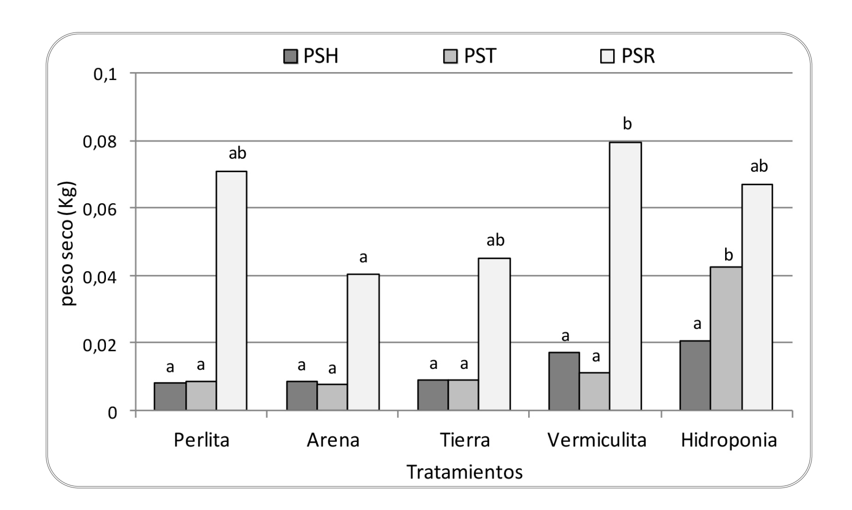


Figura 5. Peso seco de hojas, tallos y raíces de plantas de *Canna indica* en diferentes sustratos. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (p<0,05).

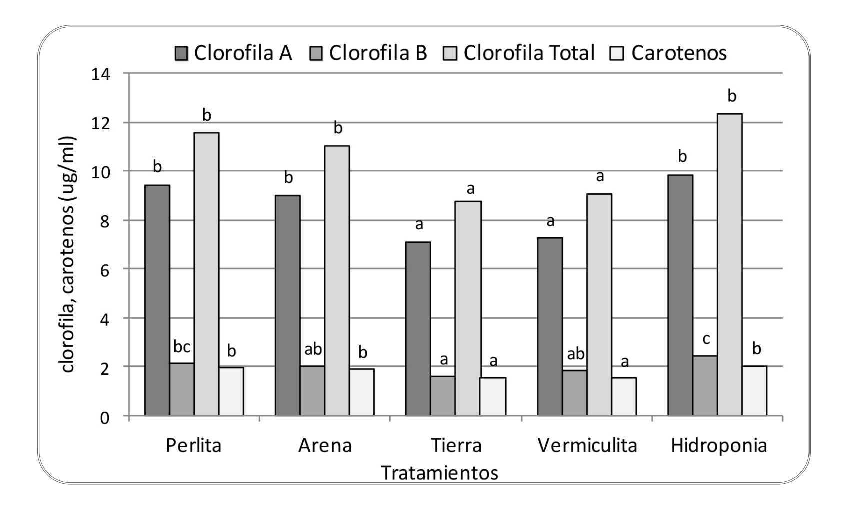


Figura 6. Contenido de clorofila A, B, total y carotenos de plantas de *Canna indica* conque crecieron en diferentes sustratos. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (p<0,05).

En este ensayo, además del tratamiento con solución de Hoagland, el tratamiento en el cual las plantas crecieron en vermiculita mostró una respuesta favorable en los parámetros de crecimiento, diferenciándose significativamente del resto de los tratamientos. Una respuesta similar se observó en el contenido de proteínas solubles en agua y en la densidad de granos de almidón.

En cuanto al contenido de pigmentos, tanto clorofila como carotenoides, observamos una respuesta favorable cuando los rizomas crecieron en solución de Hoagland, perlita y arena. Estos dos últimos sustratos son muy utilizados en este tipo de cultivo porque presentan varias características favorables como porosidad apropiada, estabilidad física, disponibilidad en el mercado y bajo costo. Otra propiedad que diferencia estos sustratos de otros es la baja capacidad de intercambio catiónico (CIC) que no supera los 10 $meq.L^{-1}$ (Beltrano & Giménez, 2015). En los actuales sistemas de cultivos sin suelo, en los que con la nueva tecnología existente se puede formular de forma cómoda las soluciones nutritivas, suelen usarse sustratos con una baja CIC, o sea, que sean químicamente inertes o de muy baja actividad (Moreno, 2007). Cuando la CIC es baja o nula el material actúa exclusivamente como medio de soporte para el cultivo, sin ejercer influencia sobre el intercambio de minerales de los que se nutre la planta. Estas características mencionadas de los sustratos, tienen relación directa con la disponibilidad de los nutrientes y especialmente con aquellos que presentan alta movilidad como el N y el Mg, ambos componentes de la molécula de clorofila. Esto puede explicar las diferencias encontradas respecto al contenido de pigmentos fotosintéticos en estos tratamientos al igual que en el tratamiento donde los rizomas crecieron directamente en solución nutritiva.

Por otra parte, la potencialidad y habilidad de las plantas para cumplir su ciclo de vida fuera de nuestro planeta (Ivanova *et al.*,1993, Musgrave, 2007), las convierte en un recurso de gran importancia en la exploración espacial. En este sentido, la Agencia Espacial Europea (ESA) ha trabajado en el proyecto MELISSA (Micro-Ecological Life Support System Alternative), el cual constituye un sistema regenerativo cerrado (CRLSS: Closed Regerative Life Support Systems) que absorbe el CO_2, emite O_2, purifica el agua por transpiración y recicla desechos por medio de nutrición mineral, e incluye un área de producción de plantas superiores con énfasis en plantas alimenticias (Godia, 2004; Hendrickx *et al*., 2006). De esta manera, el cultivo de *C. indica*, también podría ocupar un rol esencial dentro de los sistemas de soporte vital bio-regenerativo necesarios para la exploración espacial, aportando al hábitat de los astronautas, alimento, disminución de CO_2, producción de O_2, reciclaje de residuos, gestión del agua e incluso, tener un impacto positivo en la salud psicológica de la tripulación (Zabel *et. al.*, 2016).

CONCLUSIÓN

El cultivo de *C. indica* realizado en los sustratos hidroponía en solución y vermiculita, en condiciones controladas de invernáculo, permite la producción de rizomas de mayor tamaño y calidad respecto a los restantes sustratos ensayados, en menos de cuatro meses, donde las plantas lograron completar satisfactoriamente su ciclo de vida. Esta técnica de cultivo no convencional de *C. indica* permite la cosecha manual de fragmentos de rizomas, sin destruir al organismo vegetal que los produce, permitiendo la propagación de la especie y que ésta continúe produciendo el órgano alimenticio. El cultivo no convencional de *C. indica* podría aportar alimento suplementario a poblaciones humanas situadas en ambientes extremos de nuestro planeta e incluso fuera de éste, como parte de los sistemas de soporte vital ensayados en la NASA y en la ESA.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Ana María Arambarri, especialista en Morfología y Anatomía Vegetal, Directora del Laboratorio de Morfología Comparada de Espermatófitas (LAMCE) de la Facultad de Ciencias Agrarias

y Forestales de la Plata (FCAyF), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), por la lectura crítica del manuscrito. Asimismo, agradecemos el apoyo técnico e intelectual, brindado por el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE-FCAyF-UNLP) y por el Instituto de Astrobiología de Colombia (IAC). Por último, agradecemos a los revisores por sus valiosos aportes.

BIBLIOGRAFÍA

Antillón, L. A. (2004). *Hidroponía, Cultivo sin tierra*. (1º Ed). Editorial Tecnológica de Costa Rica.

Barrera , V. H., Tapia, C. G., & Monteros, A. R. (Eds.). 2004. *Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador*. Serie: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos. Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). No.4. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Quito, Ecuador - Lima, Perú.

Beltrano, J., & Gimenez, D. O. (2015). *Cultivo en hidroponía*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). https://doi.org/10.35537/10915/46752

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 248-254. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999

Bueno Prieto, J. E., & Martínez Frías, J. (2021). Desierto de la Tatacoa: Marte en Colombia. https://doi.org/10.21028/jbp.2021.12.09

Cabrera, A. L. (1976). *Regiones Fitogeográficas Argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería.* Fasciculo I, Tomo II, (2º Ed,), ACME S.A.C.I, Buneos Aires, Argentina.

Cañar Inga, E. A., & Paguay Verdugo, E. M. (2017). *Estandarización de la técnica de microdilución de actividad antifúngica de extractos hidrofílicos y liofílicos de plantas medicinales frente a Candida albicans.* Facultad de Ciencias químicas Carrea de Bioquímica y Farmacia. Ecuador [tesis doctoral, Universidad de Cuenca].

Chavarría-Torrez, A., & Castillo-Castro, S. D. (2018). El forraje verde hidropónico (FVH), de maíz como alternativa alimenticia y nutricional para todos los animales de la granja. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 4 (8), 1032-1039. https://doi.org/10.5377/ribcc.v4i8.6716

Cowles, J. R., LeMay, R., Jahns, G., Scheld, W. H., & Peterson, C. (1989). *Lignification in young plant seedlings grown on earth and aboard the space shuttle*. En: Lewis N. G. & Paice M. G. (Eds.). *Plant Cell Wall Polymers. Biogenesis and Biodegradation.* ACS Symposium Series. American Chemical Society; Washington, DC, USA, 399, 203-213. https://doi.org/10.1021/bk-1989-0399.ch015

D'Ambrogio, A. (1986). *Manual de técnicas en histología vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.

Espinosa, P., Vaca, R., Abad, J., & Crissman, C. (1997). *Raíces y tubérculos andinos. Cultivos marginados en el Ecuador: situación actual y limitaciones para la producción*. Ediciones Abya-Yala. Quito, Ecuador.

Figueroa Cardozo, Y., & Galeano, G. (2004). Guía ilustrada de la flora del Desierto de la Tatacoa, Huila, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 29(2), 263-281.

Florez Molina, M.T., Parra Sánchez, L. N., Jaramillo Jaramillo, D.F., & Jaramillo Mejía, J.M. (2018). Evidencias macromorfológicas y micromorfológicas de paleosuelos en el desierto de La Tatacoa y su variación sincrónica. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, *42*(165), 422-438. https://doi.org/10.18257/raccefyn.702

Godia, F., Albiol, J., Perez, J., Creus, N., Cabello, F., Montras, A., Masot, A., & Lasseur, C. (2004). The MELISSA pilot plant facility as an integration test-bed for advanced life support systems. *Advances in Space Research*, 34,1483–1493. https://doi.org/10.1016/j.asr.2003.08.038

Gómez, F. (2016). *Vida en ambientes extremos*. Investiga I+D+i. http://www.programainvestiga.org/pdf/guias2016-17/Guia%20introductoria%20al%20tema%20vida%20en%20ambientes%20extremos.pdf

Grau, R. H., Babot, M. J., Izquierdo, A. E., & Grau, A. (2018). *La Puna Argentina: naturaleza y cultura*. *Serie Conservación de la Naturaleza* Nº 24. https://doi.org/10.1659/mrd.mm233

Hendrickx, L., de Wever, H., Hermans, V., Mastroleo, F., Morin, N., Wilmotte, A., Janssen, P., & Konnerup, D., & Brix, H. (2010). Nitrogen nutrition of *Canna indica*: effects of ammonium versus nitrate on growth, biomass allocation, photosynthesis, nitrate reductase activity and N uptake rates. *Aquatic Botany*, *92* (2), 142-148. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2009.11.004

Hernández, M .P., Civitella, S. M. &, Rosato,V. G. (2010). Uso medicinal popular de plantas y

líquenes de la Isla Paulino, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Boletín Latinoamericano del Caribe Plantas Medicinales Aromática*, 9(4), 258-269.

Hernández, M.,P. ,& Arambarri , A.,M. (2019). Variación estacional de la densidad de granos de almidón en rizomas de *Canna glauca* y *C. indica* (Cannaceae). *Lilloa*, 56(2), 37-46. https://doi.org/10.30550/j.lil/2019.56.2/3

Hernández, M. P., Calonge, F. S., Morandi, L. A. , Katinas, L., & Arambarri, A. M. (2019). Uso tradicional de las plantas puneñas en la localidad Tolar Grande, Provincia de Salta (Argentina). XXXVII Jornadas Argentinas de Botánica, Tucumán, Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 54 (Supl.), 174-175.

Hernández, M.P., Carbone, A.V., Katinas, L., Arambarri, A, M., Carrasquero, S., Morandi, L. A., Calonge, F., Araujo, M., & Gutiérrez, M. T. (2020). Plantas vasculares puneñas y altoandinas de la provincia de Salta (Argentina) para la terraformación del planeta marte. V Congreso Internacional de Astrobiología. Instituto de Astrobiología de Colombia (IAC). Universidad de Atlántico, Bogotá. Colombia.

Hurrell, J. A., Bazzano, D. H. &, Delucchi, G. (2005). *Monocotiledóneas Herbáceas Nativas y Exóticas*. En Hurrell, J. A. (ed.). *Biota Rioplatense X*, 1-320. Buenos Aires, Lola.

Jost, A. I., Hoson, T. &, Iversen, T. H. (2015). The Utilization of Plant Facilities on the International Space Station-The Composition, Growth, and Development of Plant Cell Walls under Microgravity Conditions. *Plants* (Basel, Switzerland), *4*(1), 44-62. https://doi.org/10.3390/plants4010044

Ivanova, T. N., Bercovich, Y . A., Mashinskiy, A. L., & Meleshko, G. I. (1993). The 1st space vegetables have been grown in the svet greenhouse using controlled environmental-conditions. *Acta Astronautica,* 29: 639-644. https://doi.org/10.1016/0094-5765(93)90082-8

MacElroy, R. D. (1974). Some comments on the evolution of extremophiles. *Biosystems*, 6, 74-75.

Martínez Crovetto, R. 1981. Plantas utilizadas en medicina en el noroeste de Corrientes (República Argentina)". *Fundación Miguel Lillo*. *Miscelánea*, 69, 1-139.

Marzocca, A. (1993). *Vademécum de Malezas Medicinales de la Argentina indígenas y exóticas*. Orientación Gráfica Editorial S.R.L., Buenos Aires, Argentina.

Medina, F. J. (2020). Space explorers need to be space farmer. What we know and what we need to know about plant growth in space. University of Valencia*, Metode Science Studies Journal,* 11, 55-62. https://doi.org/10.7203/metode.11.14606

Monje, C. (2001). *La Tatacoa. Ecosistema estratégico de Colombia*. Editorial Universidad Surcolombiana.

Montaldi, E. R. (1995). *Principios de Fisiología Vegetal*. (1º Ed.). Ediciones Sur, La Plata, Argentina.

Morales López, D. A. (2019). *Proyecto para la elaboración y comercialización de té de achira en la ciudad de Quito-Ecuador* [tesis doctoral, Universidad Central del Ecuador].

Moreno, N. R. (2007). *Manual de producción de tomate rojo bajo condiciones de invernadero para el calle de Mexicali, Baja California*. Fundación produce, gobierno de Baja California, México.

Musgrave, M. E. (2007). Growing plants in space. CAB Reviews: Perspectives. In Agriculture, Vetetinary Science, Nutrition ando Natural Resourses, 2 No. 065. https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20072065

Paradiso, R., de Micco, V., Buonomo, R., Aronne, G., Barbieri, G., & de Pascale, S. (2014). Soilless cultivation of soybean for bioregenerative life-support systems: A literature review and the experience of the MELISSA project - Food characterisation phase I. *Plant Biology,*16, 69-78. https://doi.org/10.1111/plb.12056

Pocchetino, M.L. (2015). *Botánica económica. Las plantas interpretadas según tiempo, espacio y cultura. Sociedad Argentina de Botánica*.

Popenoe, H., King, S. R., León, J., & Sumar Kalinowsky, L. (1990). Lost Crops of the Incas. *National Academy Press*. Washington D. C., 3-15.

Rendón, J. B., & Ramírez Jiménez, E. A. (2012). Espacios globales y resistencias locales, en el bosque seco tropical La Tatacoa. *Ciudad Paz-ando*, 5(1), 137-150. https://doi.org/10.14483/2422278X.7295

Rapoport, E. H., Marzocca, A., & Drausal, B.S. (2009). *Malezas comestibles del Cono Sur y otras partes del planeta. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria,* Universidad Nacional del Comahue.

Rodríguez Borray, G. A., García Bernal, H. R., Camacho Tamayo, J. H., & Arias, F. L. (2003). *El almidón de achira o sagú (Canna edulis Ker). Manual Técnico para su elaboración.* Corporación Colombiana de lnvestigación Agropecuaria. Subdirección de lnvestigación e Innovación Tecnológica. Programa Nocional de Procesos Agroindustriales. Colombia.

Romero Vásquez, S. M., & Valdez Valles, J. A. (2016). *Capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales del estracto fluído de las*

hojas de Canna indica L. *(achira) frente al radical libre 2,2-difetil-1-picrilhidracio* [tesis doctoral, Universidad Nacional de Trujillo].

Ruyters, G., & Braun, M. (2014). Plant biology in space: recent accomplishments and recommendations for future research. *Plant Biology,* 16: 4–11. https://doi.org/10.1111/plb.12127

Tapia, M. E., & Fries, A. M. (2007). *Guía de campo de los cultivos andinos*. FAO y ANPE. Lima.

Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls A and B, as well as Total caroteinds, using various solvents with Spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology,* 144, 307-313. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2

Yaruro Cáceres, N. C., Suarez Mahecha, H., de Francisco, A., Vásquez Mejía, S. M., & Daz Moreno, C. (2021). Physicochemical, thermal, microstructural and paste properties comparison of four achira (Canna edulis sp.) starch ecotypes. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 25. https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100380

Zabel, P., Bamsey, M., Schubert, D., & Tajmar, M. (2016). Review and analysis of over 40 years of space plant growth systems. *Life Sciences in Space Research*, 10, 1-16. https://doi.org/10.1016/j.lssr.2016.06.004

REVISTA
CIENCIAS NATURALES
Facultad de Ciencias Naturales · Universidad Nacional de Salta

e-ISSN 2953-5441
Vol. 2(1): 36-46

ARTÍCULO

Variación Fitoplanctónica del Embalse Campo Alegre (Salta) Luego de 15 Años

Phytoplankton Variation in Campo Alegre Reservoir (Salta) After 15 Years

Lucía Laureano[1], Florencia Alvarez Dalinger[1, 2*], Liliana Moraña[1], & Claudia Borja[1]

1. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150 (A4408FVL) Salta, Argentina.
2. CCT-CONICET (Centro Científico Tecnológico-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), Salta, Argentina. *floralvarezdalinger0@gmail.com

Resumen

El embalse Campo Alegre se encuentra ubicado en el departamento La Caldera (Salta, Argentina). En el año 2021 se instaló una planta potabilizadora anexa al mismo para utilizar sus aguas para abastecimiento de una población de 200.000 personas. Se plantearon los siguientes objetivos: 1) Analizar la estructura y dinámica del fitoplancton en el embalse Campo Alegre (Salta), identificando los parámetros físicos y químicos que influyen en el mismo, y 2) Determinar si el embalse ha experimentado cambios significativos en su calidad luego de 15 años. Se realizaron 3 muestreos en el período I (años 2007-08) y 3 en el período II (años 2022-23) en los meses estivales, considerando dos sitios, P= presa y C= cola del embalse. Las muestras se extrajeron a la profundidad del disco de Secchi. Se analizaron los parámetros físicos y químicos según normas de la APHA (2005) y recuentos de fitoplancton según técnica de Utermöhl (1958). Los parámetros físicos y químicos que se diferenciaron entre períodos fueron pH, turbidez, alcalinidad, DQO y P-PRS, y entre los biológicos, fueron clorofila a, abundancia de dinofíceas y riqueza específica. Las abundancias de fitoplancton total no presentaron diferencias significativas, aunque se observó un cambio en la composición de la comunidad entre períodos, durante el período I se destacaron los dinoflagelados con *Ceratium hirundinella* como especie dominante; mientras que en el período II dominaron las clorófitas. Se observó una disminución importante en la riqueza entre períodos, lo que puede estar indicando una pérdida de la calidad del agua del embalse 15 años después. Al utilizarse en la actualidad para agua de consumo, se torna indispensable realizar monitoreos continuos de la calidad física, química y biológica de las aguas del embalse.

Palabras Clave: Calidad de aguas; *Ceratium hirundinella;* Campo Alegre (Salta, Argentina); Limnología

Abstract

Campo Alegre Reservoir is located in La Caldera district (Salta, Argentina). In 2021, a water treatment plant was annexed to it in order to to use its waters for the supply of a population of 200,000 people. The following objectives were set: 1) Analyze the structure and dynamics of phytoplankton in Campo Alegre Reservoir (Salta), identifying the physical and chemical parameters that influence it, and 2) Determine if the reservoir has undergone significant changes in its quality after 15 years. Three samplings were carried out in Period I (years 2007-08) and three in Period II (years 2022-23) during the summer months, considering 2 sites, P= dam and C= tail of the reservoir. Samples were taken at the depth of the Secchi disk. Physical and chemical parameters were analyzed following APHA guidelines (2005), and phytoplankton counts were done using the Utermöhl technique (1958). The physical and chemical parameters that differed between periods were pH, turbidity, alkalinity, COD, and P-PRS, and among the biological parameters, were chlorophyll a, dinoflagellate abundance, and species richness. Total phytoplankton abundances did not display significant differences, although there was a change in the community composition between periods; dinoflagellates with *Ceratium hirundinella* as the dominant species stood out in Period I, while chlorophytes dominated in Period II. A significant decrease in richness between periods was observed, indicating a potential loss of water quality in the reservoir after 15 years. As it is currently used for drinking water, continuous monitoring of the physical, chemical, and biological quality of the reservoir's water is essential.

Keywords: Campo Alegre (Salta, Argentina), *Ceratium hirundinella*, Limnology, Water quality

Laureano, L., Alvarez Dalinger, F., Moraña, L., & Borja, C. (2024). Variación Fitoplanctónica del Embalse Campo Alegre (Salta) Después de 15 Años. Revista Ciencias Naturales, 2(1), 36–46.

Recibido: 15/10/2023 Aceptado: 20/2/2024 Publicado: 15/3/2024 Editora: Olga Martínez

INTRODUCCION

Las proyecciones climáticas realizadas por expertos aportan suficiente evidencia para afirmar que los recursos de agua dulce son vulnerables (IPCC, 2007). Algunas predicciones marcan que en las próximas décadas los ríos, lagos y embalses experimentarán aumento de la temperatura, alteraciones en los procesos de mezcla y estratificación de la columna de agua, y la consiguiente distribución de los nutrientes (Carey *et al.*, 2012; Winder & Sommer, 2012).

Una de las principales amenazas de los embalses son los procesos de eutrofización. Este enriquecimiento de nutrientes es muy común y ha sido reportado en numerosos cuerpos de agua argentinos. Una consecuencia importante de la eutrofización es el desarrollo de floraciones de algas y cianobacterias. Si bien la eutrofización puede ser un fenómeno natural, la mayoría responde a un origen antrópico y representan una grave amenaza para el uso y la sostenibilidad de nuestros recursos de agua dulce (Rosso & Giannuzzi, 2017). Entre las principales causas antropogénicas que contribuyen al enriquecimiento de nutrientes se encuentran el vertido de efluentes domésticos e industriales y el uso desmedido de fertilizantes nitrogenados que luego por lixiviación y arrastre llegan a los cuerpos de agua (Reynolds, 1984; Rosso & Giannuzzi, 2017).

El fitoplancton es un grupo polifilético de organismos fotosintéticos, principalmente unicelulares, que se encuentra en suspensión en aguas dulces y/o saladas. En muchos casos, el fitoplancton se utiliza como indicador de la calidad del agua y/o de la degradación biológica de los ambientes acuáticos. En este sentido, el manejo antrópico del embalse artificial influye en la dinámica de las comunidades fitoplanctónicas, pudiendo incluso ser diferente a la dinámica observada en sistemas naturales de similares características pero carentes de manejo antrópico.

Estos embalses proveen de diversos servicios ecosistémicos a la mayor parte de la población de la región, cuyas actividades están contribuyendo actualmente al deterioro de estos cuerpos de agua de manera significativa. Este deterioro se manifiesta en un alto grado de enriquecimiento de nutrientes, que ha llevado a un cambio en el estado trófico de los cuerpos de agua. Además, se han observado concentraciones elevadas de nutrientes, clorofila y floraciones frecuentes de algas y cianobacterias, como se documenta en el trabajo de Salusso & Moraña (2000). Otro de los efectos indeseados son las floraciones de cianobacterias de cepas que liberan cianotoxinas, que pueden tener efectos importantes sobre la fauna y el ser humano (Gianuzzi *et al.*, 2011). Como resultado de estos procesos, la calidad del agua puede experimentar una degradación, que podrá afectar tanto a sus usos actuales como a los futuros.

Los objetivos de este estudio son dos, analizar la estructura y dinámica del fitoplancton en el embalse Campo Alegre (Salta), identificando los parámetros físicos y químicos que influyen en el mismo, y determinar si el embalse ha experimentado cambios significativos en su calidad después de un período de 15 años.

MATERIALES Y METODOS

Área de Estudio

El embalse Campo Alegre, también conocido como dique Ing. Alfonso Peralta, se encuentra en la provincia de Salta, a 5 km de la localidad La Caldera (24°33´44,76´´S, 65° 22´5,75´´W) (Fig.1). El clima en la zona es subtropical serrano con estación seca (Tabla 1).

El embalse fue construido en la década del 70 y desde entonces se utiliza principalmente para el riego de campos durante los meses de estiaje (agosto a diciembre) restringiendo así su nivel hidrométrico. Por otra parte, en el embalse también se realizan actividades recreativas incluidas la natación, la pesca y otros deportes acuáticos. En el año 2021 culminó la instalación de una nueva planta potabilizadora que se estima proveerá a

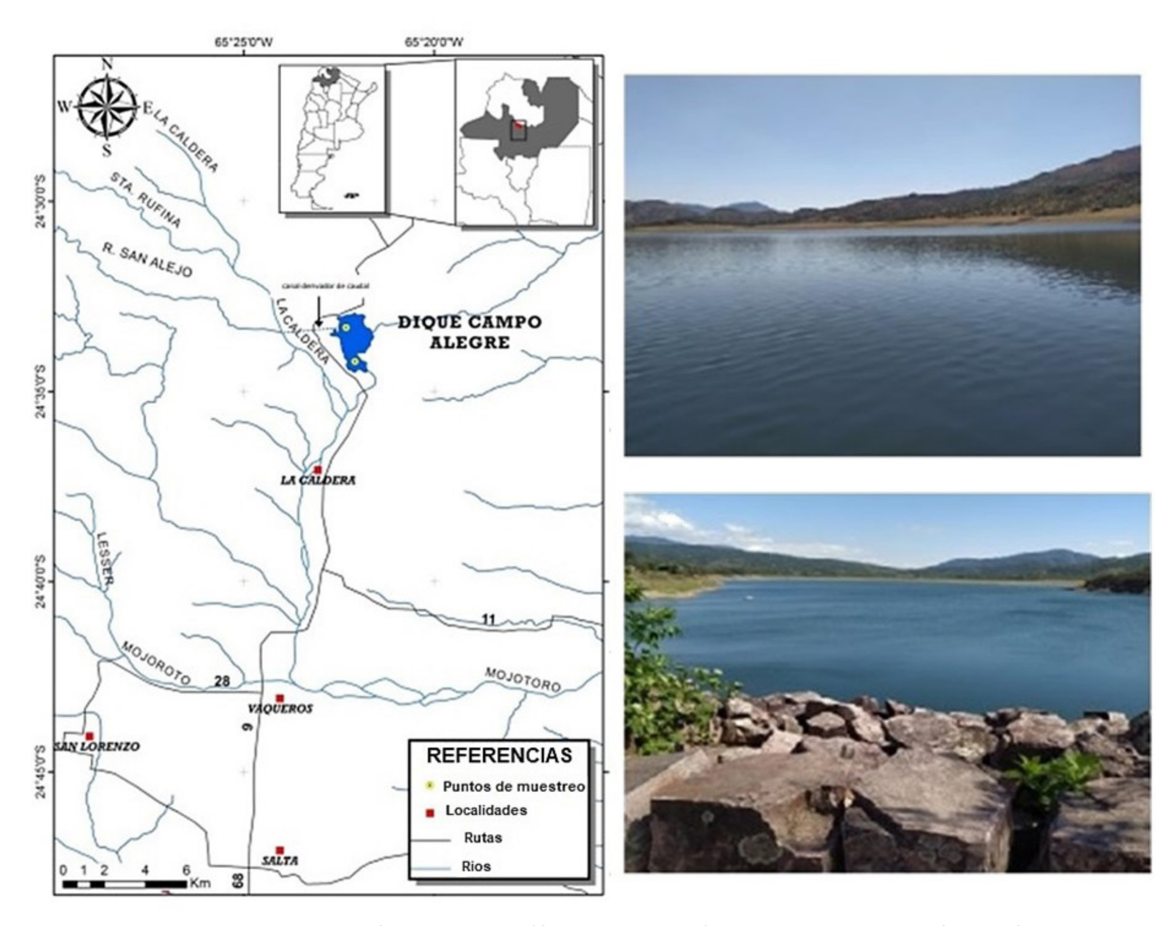


Figura 1. Ubicación del embalse Campo Alegre (Salta, Argentina), sitios de muestreo y fotografías del lugar.

Altitud (m.s.m)	Área (km2)	Volumen (hm3)	Profundidad (m)	Precipitación anual (mm)	T (°C) media anual
1398	3,15	44	14,4	684	14,6

Tabla 1. Características del embalse Campo Alegre (Salta, Argentina).

aproximadamente 200.000 habitantes de la ciudad de Salta y localidades de La Caldera y Vaqueros para el año 2038. Si bien aún no se encuentra en funcionamiento pleno, ya se han realizado estudios para comprobar la eficiencia de remoción de algas y cianobacterias utilizando procesos de ozonificación, lo cual es una novedad en los sistemas de tratamiento salteños (Salusso & Moraña, 2023).

Muestreos

Se realizaron tres muestreos en el período I (octubre, noviembre de 2007 y febrero de 2008) y período II (octubre, noviembre de 2022 y febrero de 2023), considerando 2 sitios del embalse; presa (24°34'28.82"S; 65°22'2,99"O) y cola (24°33'25.54"S; 65°22'11,06"O). Se consideró "Cola" al ingreso del afluente y "Presa" a la zona más profunda central cercana al muro de contención. Las muestras se extrajeron a la profundidad del disco de Secchi.

Variables físicas y químicas

En todos los muestreos se realizó el perfil térmico (°C) del embalse con sensor multiparamétrico Orión para determinar si existía estratificación de la columna de agua, se midió también la conductividad

eléctrica (µS/cm) y el pH con sensor Cole Parmer pH/CON10, la turbidez (NTU) con turbidímetro portátil HACH 2100P y oxígeno disuelto (mg/L) con oxímetro HACH. Las muestras para los análisis físicos, químicos y biológicos se obtuvieron con un muestreador Van Dorn a la profundidad del disco de Secchi, posteriormente se refrigeraron hasta su análisis.

En laboratorio se analizaron los siguientes parámetros físicos y químicos según técnicas normalizadas de la APHA (2005): Alcalinidad (mg $CaCO_3$/L), demanda química de oxígeno (DQO) (mg/L O_2), nutrientes (nitratos, nitritos, amonio y fósforo reactivo soluble (P-PRS), y clorofila a mediante la técnica de Scor-Unesco modificada (Cabrera Silva, 1984).

Análisis de fitoplancton

Las muestras para el análisis cualitativo se recogieron en subsuperficie con una red de malla de 30 µm y se fijaron con formaldehído al 4%. El análisis cuantitativo se realizó a partir de muestras tomadas a la profundidad del disco de Secchi, luego fueron fijadas en Lugol acidificado y almacenadas a 4°C hasta su análisis. Los recuentos se realizaron, después de la sedimentación durante 24 h, en cámaras combinadas usando un microscopio Zeiss L invertido siguiendo a Utermöhl (1958). En cada muestra se realizó el conteo hasta obtener al menos 100 individuos de las especies más frecuentes. Los resultados se expresaron en abundancia total (células/mL) y abundancias promedio. Las especies de mayor abundancia relativa (expresada en porcentaje) sobre el fitoplancton total se consideraron dominantes. Los organismos sin contenido celular no fueron considerados en el conteo. Las especies se identificaron mediante la captura de imágenes con una cámara digital Axio Cam1Cc3 y utilizando bibliografía especializada. La determinación de diatomeas se realizó empleando bibliografía de referencia (Krammer & Lange-Bertalot, 1988, 1991), para clorófitas Komárek & Fott, (1983), para euglenófitas Tell & Conforti (1986), y para cianobacterias Komárek & Anagnostidis (2005).

Toxinas

En el primer período las toxinas se cuantificaron utilizando el ensayo ELISA, con límite de detección de 0,147 µg/L y en el segundo período mediante el ensayo de inhibición de fosfatasa alcalina. Los ensayos de inhibición de la fosfatasa en el presente trabajo se realizaron utilizando el kit comercial CIANOTOX elaborado por el Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología Traslacional (Universidad Nacional de Buenos Aires). El kit presenta como límite de detección inferior 0,40 µg/L de Myc LR. Los resultados se expresan en equivalentes de Myc LR, aunque el test permite determinar la toxicidad de cualquier tipo de microcistina ya sean totales, libres o intracelulares. En este caso se consideraron las muestras obtenidas en la presa del embalse a la profundidad de 1 disco de Secchi en las 3 fechas, octubre, noviembre y diciembre. La cuantificación se realizó con la colaboración del Laboratorio de Química Biológica de la Universidad Nacional de Salta (UNSa).

Análisis Estadístico

El análisis de los datos se llevó a cabo utilizando el programa InfoStat versión 2013. A fin de contrastar diferencias en los promedios de las variables estudiadas entre ambos períodos de muestreo, se utilizó test de Student o la Prueba de Wilcoxon, según si los datos cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad o no, respectivamente. Finalmente, se definieron *a priori* cuatro grupos de muestras considerando los diferentes períodos y sitios estudiados: I-P= muestras tomadas en el primer período en la presa, I-C= muestras tomadas en el primer período en la cola del embalse, II-P= muestras tomadas en el segundo período en la Presa y II-C= muestras tomadas en el segundo período en la cola del embalse; se utilizó un método de análisis multivariado, el Análisis Discriminante, con el objetivo de encontrar la combinación de variables que maximice la diferencia entre los grupos. En los casos en los que se consideraron abundancias promedio, estas fueron calculadas como los promedios

de las abundancias por embalse (presa y cola) y por período.

RESULTADOS

En el período I los parámetros pH, turbidez, alcalinidad y P-PRS fueron significativamente superiores, mientras que los registros de DQO fueron mayores en el período II (Tabla 2). La temperatura media del agua fue superior durante el primer período con 23,18 (±1,32°C) en comparación con el segundo período con 21,85 (±1,86°C). Por su parte el oxígeno disuelto fue levemente superior en el segundo período con 7,64 (±1,62 mg O_2/L) contra los 6,56 (±1,60 mg O_2/L) reportados durante el primer período de muestreo, éstos dos últimos parámetros no presentaron diferencias significativas.

En el caso del nitrógeno, el valor medio de NIS (NNO_2+NNO_3+NNH_3) en 2007-08 fue 0,32 (±0,12 mg/L), mientras que en 2022-23 alcanzó una media de 0,50 (±0,54 mg/L). En base a la relación N/P se registró limitación por nitrógeno en todas las muestras del primer período, y en la mayoría de las muestras recolectadas durante el segundo período, con excepción del muestreo de febrero de 2023 que evidenció limitación por fósforo.

Variables biológicas

Durante el primer período de muestreo, se identificó un total de 40 especies: Bacillariophyceae (11), Chlorophyta (15), Cyanobacteria (3), Cryptophyceae (5), Dinophyceae (3) y Euglenophyceae (3), los que estuvieron acompañados por otros fitoflagelados nanoplanctónicos (Fig. 2). De las especies identificadas, *Rhodomonas minuta* y *Ceratium hirundinella* estuvieron siempre presentes. Clorófitas y bacillariofíceas registraron el mayor número de especies, en tanto que los dinoflagelados representados principalmente por *C. hirundinella* aportaron las mayores abundancias.

Entre 2022 y 2023, se identificaron nueve especies del fitoplancton, correspondiendo a: Cyanobacteria (1), Dinophyceae (1), Euglenophyceae (2), Bacillariophyceae (2) y Chlorophyta (3). Durante este período, los valores más elevados de riqueza se registraron en el muestreo de octubre-22, especialmente en la presa con 9 especies, mientras que en los muestreos de noviembre-22 y febrero-23 la riqueza disminuyó considerablemente registrándose un máximo de 4 y 2 especies respectivamente. La única especie que se registró en todos los muestreos fue *Carteria multifilis*.

La abundancia media registrada en el embalse en 2022-23 fue de 7.800 (±11.538 ind/mL), con un máximo de 30.224 ind/mL observado en el muestreo de octubre-22, en el cual se registró una floración de *C. multifilis*. El grupo dominante del fitoplancton estuvo constituido por las clorófitas con una media de 7.543 (±11.155 ind/mL), el segundo grupo con mayor representación fueron los dinoflagelados con una abundancia media de 147 (±231 ind/mL). Los demás grupos fitoplanctónicos no superaron en ninguno de los muestreos el 2% de abundancia relativa. Las variables biológicas que evidenciaron diferencias significativas entre períodos se detallan en Tabla 3.

A pesar de no observarse diferencias significativas en la abundancia del fitoplancton total entre períodos, es notable la diferencia en abundancia absoluta de los diferentes grupos de algas y cianobacterias fitoplanctónicas entre ambos períodos de muestreo, con una dominancia de dinoflagelados en el período I, y una dominancia de clorófitas en el II.

Toxinas

No se detectaron toxinas en ninguno de los muestreos realizados. Estos resultados concuerdan con el hecho de que las cianobacterias siempre estuvieron pobremente representadas con abundancias promedio de 195 y 41 ind/mL en los períodos I y II respectivamente.

Análisis discriminante

El análisis discriminante realizado con la información de nutrientes presentó una tasa de error aparente promedio elevada (41,67 %), esto indica que no logró una correcta discriminación entre grupos. Por su parte,

Variable	Período	Media	Desvío	Test	p
pH	I	8,98	0,81	T=3,31	0,0079
	II	7,5	0,73		
Turbiedad	I	17,83	8,76	T=3,29	0,0167
	II	5,43	2,96		
Alcalinidad	I	65,9	6,85	T=2,89	0,0277
	II	39,83	21,02		
	II	89,22	36,78		
DQO	I	32,33	22,18	T=-2,36	0,0400
	II	70,34	32,63		
P-PRS	I	0,12	0,08	W= 55	0,0087
	II	0,02	0,02		

Tabla 2. Parámetros físicos, químicos y biológicos registrados embalse Campo Alegre (Salta, Argentina) en los períodos I y II (2007-08 y 2022-23) con diferencias significativas (p≤0.05). Datos de Presa y Cola en conjunto.

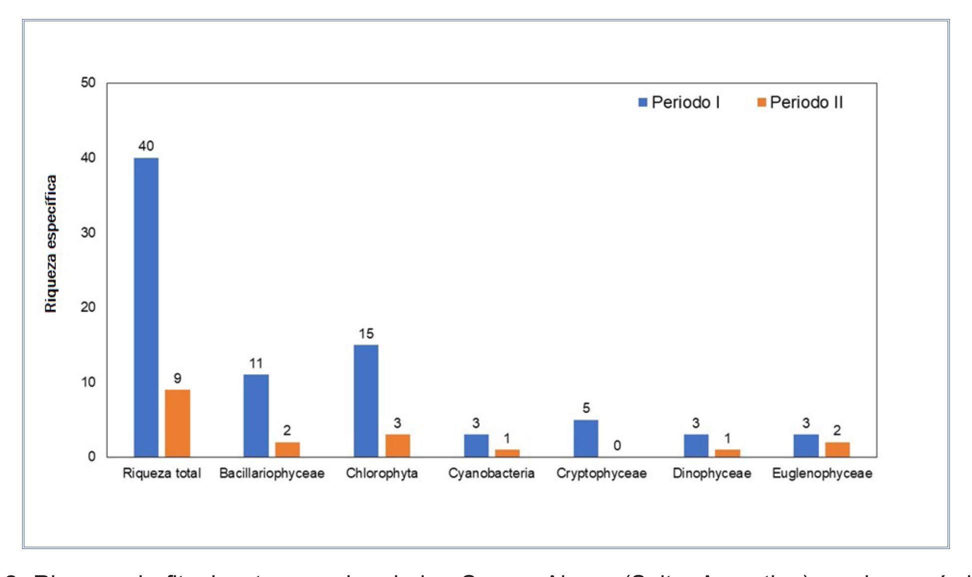


Figura 2. Riqueza de fitoplancton en el embalse Campo Alegre (Salta, Argentina), en los períodos I y II (2007-08 y 2022-23).

el análisis discriminante realizado con las variables físicas y químicas, sin tener en cuenta los nutrientes, concluyó que el primer eje canónico explicó el 95,58 % de la variación entre grupos, mientras que el segundo el 3,56 %. Entre ambos ejes canónicos (1 y 2) se logró la discriminación de los cuatro grupos de datos (Fig. 3). Las variables más importantes para la discriminación en el eje canónico 1 fueron la conductividad (-6,36), la DQO (6,31), la turbiedad (-2,49) y la alcalinidad (1,61). Las muestras de aguas del primer período se situaron en la región negativa de este eje canónico, y se caracterizaron por tener menores registros de DQO y mayores de conductividad y turbiedad, mientras que las obtenidas en el segundo período situadas hacia la región positiva del eje, mostraron mayores registros de DQO y menores de conductividad y turbiedad. La tasa de error de clasificación fue de cero en todos los grupos.

Variable	Período	Media	Desvío	Test	p
Diatomeas	I	87,50	101,20	W= 52	0,0346
	II	36,83	90,22		
Clorófitas	I	22,50	19,91	W= 21	0,0022
	II	7.543,17	11.155,69		
Dinofíceas	I	1.836,33	1.535,99	T=2,66	0,0447
	II	147,67	231,30		
Riqueza	I	10,33	2,66	T=4,27	0,0016
	II	3,50	2,88		

Tabla 3. Variables biológicas registradas en el embalse Campo Alegre (Salta, Argentina) en los períodos I y II (2007-08 y 2022-23) con diferencias significativas (p≤0.05). Datos de Presa y Cola en conjunto.

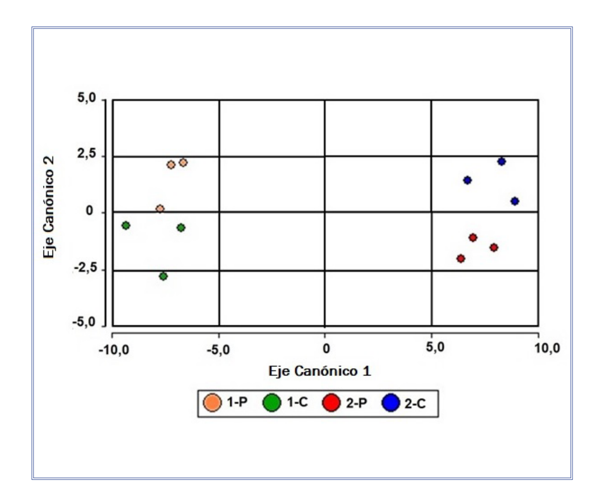


Figura 3. Análisis discriminante utilizando variables físicas y químicas en el embalse Campo Alegre (Salta, Argentina): P=Presa, C=Cola. I=Período I, II=Período II.

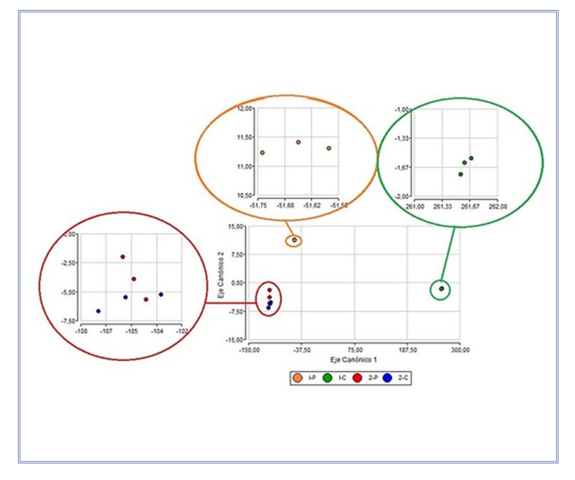


Figura 4. Análisis discriminante utilizando variables biológicas en el embalse Campo Alegre (Salta, Argentina): P=Presa, C=Cola. I=Período I, II=Período II.

El análisis discriminante realizado con las variables biológicas (abundancias de cianobacterias, diatomeas, clorofitas, euglenofíceas, dinofíceas, criptofíceas, y riqueza de especies), concluyó que el primer eje canónico explicó el 99,81 % de la variación entre grupos, mientras que el segundo el 0,19 %. Entre ambos ejes canónicos (1 y 2) se logró discriminar los cuatro grupos de datos (Fig. 4). Las variables de mayor peso en la construcción del eje canónico 1 fueron las abundancias de clorofitas y de dinoficeas. Las muestras de aguas del período II se situaron en la región negativa de ambos ejes canónicos, y se caracterizaron por tener mayores abundancias de clorofitas, mientras que las obtenidas en el período I se situaron hacia las regiones positivas de ambos ejes y mostraron mayores abundancias de dinoflagelados. La tasa de error aparente promedio fue baja (8,33 %). La información aportada por las variables biológicas consideradas explicó satisfactoriamente la variación existente entre grupos, definidos según período y sitio de muestreo.

DISCUSION

Los embalses más estudiados desde el punto de vista limnológico se encuentran en la zona más productiva del país, en donde existen intensos monitoreos que sugieren tendencias de aparición de floraciones y especies

invasoras. Estos esfuerzos de muestreo tan dispares reflejan la importancia de lograr una readecuación de los sistemas de monitoreo locales, así como también la necesidad de contar con una base de datos a nivel nacional unificada, especialmente para cuerpos de agua utilizados para potabilización (Ramírez *et al.*, 2022).

El embalse Campo Alegre ha sido estudiado en algunas oportunidades en el pasado y se han reportado floraciones de cianobacterias y de dinoflagelados (Smolko *et al.*, 2007; Borja *et al.*, 2021). El hecho de que el embalse en la actualidad se utilice para provisión de agua potable exige monitoreos y controles más intensos. Se espera que las aguas del Campo Alegre abastezcan a unas 200.000 personas, de tres municipios salteños: las zonas norte, este, sureste y parte del centro de Capital, además de las localidades de La Caldera y Vaqueros. Además, se espera que, con la construcción de un nuevo módulo, tenga una capacidad diaria de 120.000 m^3 y entonces alimente a 500.000 habitantes.

La aparición de floraciones puede comprometer seriamente la calidad del recurso y sus posibles usos, además en algunos casos, el manejo del embalse puede favorecer la proliferación de algas y cianobacterias; los procesos de extracción generan una mezcla del agua con resuspensión de material depositado en el fondo, y con ello de nutrientes. Además, la extracción de grandes cantidades de agua en períodos de sequía puede llevar a una concentración del material en suspensión.

Estudios anteriores (Smolko *et al.*, 2007; Borja, 2011;) han mostrado una tendencia hacia pH alcalinos durante los años 1995-97 (pH promedio 7,99), 2006-07 (pH promedio 8,45), 2007-8 (pH promedio 8,90), 2009-10 (pH promedio 8,65) como resultado de la proliferación de algas. Sin embargo, los valores registrados en 2022-23 contrastan con los anteriores, ya que el pH medio fue de 7,5 (±0,73). La aparición de algas y cianobacterias con elevadas abundancias tiende a elevar el pH, alcalinizando las aguas. El hecho que en años anteriores la biomasa fitoplanctónica fue superior puede explicar los mayores valores de pH (Borja *et al.*, 2011).

La alcalinidad del embalse varió entre los 25 y 67,09 mg $CaCO_3$/L. Se sabe que a valores inferiores a 50 mg $CaCO_3$/L la capacidad buffer o amortiguadora se encuentra comprometida, situación que se observó en todas las muestras recolectadas en octubre y noviembre-22 (Roldán Pérez, 1992). En las muestras de febrero-23 se observaron mayores valores de alcalinidad.

En cuanto a los nutrientes y el estado trófico, se observó mayoritariamente limitación por nitrógeno, a excepción de los muestreos realizados en febrero del 2023. El efecto de las precipitaciones puede explicar esto último, el nitrógeno no fue limitante debido al aporte de materia orgánica e inorgánica luego de las precipitaciones que aumentaron las formas inorgánicas de amonio y nitrato. El principal aporte de nutrientes al embalse sería alóctono, y se vincularía a la actividad agrícola de la región, con mayor incidencia en el período de lluvias de verano.

La riqueza de especies encontrada resultó muy inferior a lo informado en 2019-20 con 326 especies (Salusso & Moraña, 2023) o las 40 registradas en 2007-08 (Borja, 2011). La abundancia media registrada en el período II fue de 7.800 (± 11.538 ind/mL), con las clorófitas como dominantes siempre manteniéndose por encima del 89% de la abundancia total. En comparación a los resultados de los muestreos de 2007-08 si bien no se observaron diferencias significativas, en particular en el muestreo de octubre-22 se registró una floración de pequeñas clorófitas flageladas cuyas abundancias en la cola y presa del embalse superaron las 10.000 y 30.000 cel./mL, respectivamente, asociado a las menores concentraciones de NIS registradas en los tres muestreos de este período. Es sabido que, ante la escasez de nutrientes, las pequeñas algas son favorecidas por su relación superficie/volumen, y presentar estructuras que les permiten desplazarse en la columna de agua.

Se registraron durante los años 2006 y 2007 grandes concentraciones de especies indeseables como *Microcystis aeruginosa* y *C. hirundinella* (Smolko *et al.*, 2007), con una floración importante de esta última especie. En el período 2022-23, se registró *C. hirundinella* en muy bajas abundancias; se encontró solo una especie de cianobacteria durante el mes de octubre, a diferencia de 2019-20 cuando las cianobacterias dominaron en el verano (Salusso & Moraña, 2023). Muchos autores han reportado que las especies *C. hirundinella* y *Ceratium furcoides* son especies invasoras en sistemas de aguas continentales en todo el mundo (Lacerda Macedo *et al.*, 2021). La distribución de la especie *C. hirundinella* se encuentra bien documentada en el hemisferio Norte, mientras que, en el hemisferio Sur, los datos disponibles son limitados y comenzaron a recopilarse recién en la década de los 90. En particular, en Argentina, los primeros registros de la presencia de *C. hirundinella* según el informe de Thomasson (1963) fueron en las provincias de Neuquén, Río Negro y Buenos Aires, como indican Guerrero & Echenique (1997). Además, se ha observado su presencia de manera invasiva en embalses y ríos en las regiones central y norte del país, como se ha documentado en los estudios de Margalef (1983), Boltovskoy (2005) y Meichtry *et al.*, (2014). Actualmente, la especie se ha reportado en Santa Fe, Entre Ríos, Córdoba, San Luis, Catamarca, Salta, Jujuy, Tucumán y Santiago del Estero, ya sea en pequeñas cantidades de individuos o formando floraciones, como se ha registrado en los trabajos de Mac Donagh *et al.* (2005), Silverio *et al.* (2009), Martínez de Marco (2018) y Borja *et al.* (2021) entre muchos otros.

Durante el período 2007-08 la biomasa evaluada en términos de la concentración de clorofila *a* alcanzó un valor promedio de 105,69 mg/m^3 con un máximo de 149,79 mg/m^3. En el período II, la concentración media de clorofila para el embalse fue 34,31 mg/m^3, lo que representa menos de la tercera parte del registro del período I. *C. hirundinella* es una de las especies de mayor tamaño del fitoplancton por lo que aporta mayor biovolumen que las demás especies fitoplanctónicas. El hecho de que el embalse en el período I estuviera dominado por *C. hirundinella* puede explicar estas diferencias.

Los resultados de los períodos estudiados (I y II), en relación a los reportados por Salusso & Moraña (2023) en muestreos realizados entre 2020-21, evidencian que el embalse ha sufrido un empobrecimiento en cuanto a la riqueza de la comunidad fitoplanctónica. Esta disminución de la riqueza de especies sugeriría que el embalse puede ver comprometida su resiliencia y ser más vulnerable a disturbios ambientales intensos o prolongados (Reynolds, 2006).

No se detectaron toxinas en ninguno de los períodos analizados. Si bien no se detectaron floraciones de cianobacterias en nuestros muestreos que pudieran justificar la cuantificación de cianotoxinas, se sabe que las cianotoxinas son compuestos muy estables y que pueden permanecer disueltas en el cuerpo de agua durante meses, incluso cuando la floración ya no se encuentra en la columna de agua. Es por esto, y sumado a que el embalse se destina a consumo de agua, que el análisis fue llevado a cabo.

La planta potabilizadora del embalse Campo Alegre cuenta actualmente con el sistema de ozonificación del agua, mediante el cual buscan disminuir la biomasa fitoplanctónica. Los resultados de Salusso & Moraña (2023) muestran que la capacidad de remoción de algas por el proceso de ozonización produjo una importante reducción de la densidad de algas, en particular de Cyanobacteria, Zygnematoficeae, Euglenophyceae y Cryptophyceae, que en todos los casos superó el 50%. Los recuentos del fitoplancton se vuelven esenciales para poder continuar evaluando la eficiencia del tratamiento del agua extraída del embalse.

CONCLUSIÓN

El embalse Campo Alegre presentó una importante disminución en la riqueza fitoplanctónica entre el período 2007-08 y 2022-23, lo que puede traducirse en una mayor

susceptibilidad ante impactos antrópicos. En ambos períodos de muestreo se reportó la presencia de la especie *C. hirundinella*, (aunque con diferentes densidades), clasificada como especie invasora por numerosos autores de todo el mundo. La instalación y puesta en marcha de la planta potabilizadora anexa y el tratamiento con ozono, pueden generar impactos mayores en la comunidad fitoplanctónica del embalse, lo cual debe monitorearse regularmente, es por esto que nuestros resultados son útiles para evaluar la calidad del cuerpo de agua a futuro.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen al Consejo de Investigación de la UNSa por los subsidios otorgados, al Club de Regatas Güemes y al personal de la División Lacustre de la policía de la provincia de Salta por su colaboración en la realización de los muestreos, así también al laboratorio de Calidad de Aguas y de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Naturales (UNSa) por su colaboración en el proceso de trabajo y cuantificación de toxinas respectivamente, y a los revisores por sus aportes que mejoraron sustancialmente nuestro trabajo.

REFERENCIAS

APHA. (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. 21a ed. American Public Health Association/ American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC.

Boltovskoy, A. (2005). *Ceratium hirundinella* Schrank: Un dinoflagelado invasor en lagos y embalses. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 40, 1- 9. https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n1.2018.686

Borja, C. N. (2011) *Fitoplancton de los principales cuerpos leníticos de la provincia de Salta* (Tesis Magíster en Recursos Naturales y Medio Ambiente, Universidad Nacional de Salta).

Borja, C. N, Salusso, M. M., & Moraña, L., B. (2021). Dinámica del fitoplancton en reservorios del noroeste argentino (Salta). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 58, 1-1. https://doi.org/10.23818/limn.28.08

Cabrera Silva, S. (1984). Estimación de clorofila a y feopigmentos. Una revisión metodológica. Programa sobre el hombre y la biosfera., 2, 224-226. UNESCO.

Carey, C. C., Ibelings, B. W., Hoffmann, E. P., Hamilton, D. P., & Brookes, J. D. (2012). Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water research*, 46, 1394-1407. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.016

Guerrero, J. M., & Echenique, R. (1997). *Ceratium hirundinella* blooms in Argentine reservoirs. *Harmful Algae News*, 1, 16- 3.

IPCC, (2007). *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability*. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Parry, M., Canziani, O., Palutikof, J., van der Linden, J., Hanson, C. (Eds.) Cambridge, Reino Unido, Cambridge University Press.

Komárek, J., & Anagnostidis, K. (2005). Cyanoprokaryota. 2. Oscillatoriales. En B. Büdel., L. Krienitz, G. Gärtner & M. Schagerl (Eds.), *Süßwasser flora vonMitteleuropa*, 19, 1-758.

Krammer K., & Lange-Bertalot, H. (1986). Bacillaríophyceae, 1. Teil: Naviculaceae. En H. Ettl, G. Gärtner, G. H. Heynig, & D. Mollenhaver (Eds.), *Süßwasserfloravon Mitteleuropa*, 1, 1-876.

Krammer, K. and H. Lange-Bertalor. (1991). Bacillaríophyceae. 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. En: H. Ettl, J. Gerloff, H. Heynig, H., & D. Mollenhauer, D. (Eds.), *Süsswasserfloravon Mitteleuropa*, 1, 5-85.

Komárek, J., & Fott, B. (1983). *Chlorophyceae. Chlorococcales*. En G. Huber-Pestalozzi, H. Heynig, & D. Mollenhauer (Eds.). *Sußwassersflora von Mitteleuropa*.

Mac Donagh, M. E., Casco, M., & Claps, M. (2005). Colonization of a Neotropical Reservoir (Córdoba, Argentina) by *Ceratium hirundinella* (O.F. Müller) Bergh. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology,* 41(4), 291-299. https://doi.org/10.1051/limn/2005020

Macedo, R. L., Russo, P., Corrêa, R. F., Rocha, O., dos Santos, L. N., & Branco, C. W. (2021). The drifting dinoflagellate *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925: fundamental niche shift during global invasion. *Hydrobiologia*, 848, 2105-2117. https://doi.org/10.1007/s10750-020-04495-5

Margalef, R. (1983). *Limnología*. Ed. Omega, Barcelona, España.

Martínez De Marco, S. N., Tracanna, B., Isasmendi, B., Alderete, M., Taboada, M. del C., & Mi-

rande, V. (2018). Evaluación del fitoplancton en el Embalse Escaba (Tucumán, Argentina) para caracterizar la calidad de sus aguas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica,* 53, 521-542. https://doi.org/10.31055/1851.2372.v53.n4.21976

Meichtry, de Z. N., Boltovskoy, A., Costigliolo, R., & Rodríguez, M. (2014). Primer registro del dinoflagelado invasor *Ceratium furcoides* (LevanderLanghans 1925) en la Argentina y su distribución en el área de influencia del Embalse Yacyretá (río Paraná, Argentina-Paraguay), *Limnética,* 33, 153-160. https://doi.org/10.23818/limn.33.12

Ramírez, F. J., Guinder, V. A., Ferronato, C., & Krock, B. (2022). Increase in records of toxic phytoplankton and associated toxins in water samples in the Patagonian Shelf (Argentina) over 40 years of field surveys. *Harmful Algae*, 118, 102-117. https://doi.org/10.1016/j.hal.2022.102317

Reynolds, C. S. (1984). *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press.

Reynolds, C. S. (2006). *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University, New York.

Roldán Pérez, G. (1992). *Fundamentos de limnología neotropical. Medellín (Colombia*). Ed. Universidad de Antioquia, Colombia.

Rosso L., & Giannuzzi L. (2017). *Factores ambientales y antropogénicos que afectan la formación de floraciones de cianobacterias y cianotoxinas*. En L. Giannuzzi., L. Petcheneshsky L., & M. Hansen (Eds.), Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud, pp 79-93. Ministerio de Salud de la Nación, Buenos Aires, Argentina.

Salusso, M. M., & Moraña, L. B. (2000). Características físicas, químicas y fitoplancton de ríos y embalses de la Alta Cuenca del río Juramento (Salta, Argentina). *Natura Neotropicalis* 31 (1-2), 20-44. https://doi.org/10.14409/natura.v1i31.3754

Salusso, M. M., & Moraña, L. B. (2023). Efficacy of microalgae removal by ozone pilot water treatment in a subtropical South American reservoir. *Lilloa,* 60, 1-5. https://doi.org/10.30550/j.lil/2023.60.1/2023.03.02

Smolko, L. C., Salusso, M. M., & Moraña, L. B. (2007). Estudio limnológico del embalse Campo Alegre (Provincia de Salta, Argentina): diez años después. *Congreso Internacional sobre Desarrollo, Medio Ambiente y Recursos Naturales: Sostenibilidad a Múltiples Niveles y Escalas*. Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba, Bolivia.

Tell, G., & Conforti, V. (1986). Euglenophyta pigmentadas de la Argentina. *Bibliotheca Phycologica*, 75, 301.

Thomasson, K. (1963). Araucanian Lakes. *Acta Phytogeographica Suecica*, 47, 1-139.

Utermöhl H. (1958). Zur Vervollkomrnnung der quantitativen Phytoplankton-Methodic. Mitteilung Internationale Vereinigung Fuer Theoretische unde Amgewandte Limnologie.

Winder, M., & Sommer, U. (2012). Phytoplankton response to a changing climate. *Hydrobiologia*, 698(1), 5-16. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5790-5_2

REVISTA
CIENCIAS NATURALES
Facultad de Ciencias Naturales · Universidad Nacional de Salta

e-ISSN 2953-5441
Vol. 2(1): 47-60

ARTÍCULO INVITADO

Perspectivas Sociales y Ambiente. Aspectos Teóricos y Prácticos de la Aplicación de la Metodología Q en Estudios de Percepción Social sobre Problemas Ambientales

Social Perspectives and Environment. Theoretical and Practical Aspects of the Application of Q Methodology in Studies of the Social Perception of Environmental Problems

Lucas Seghezzo

Instituto de Investigaciones en Energía No Convencional (INENCO), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional de Salta (UNSa), Salta, Argentina. Avenida Bolivia 5150, (A4408FVY) Salta, Argentina. Lucas.Seghezzo@gmail.com

Resumen

Este artículo brinda un panorama actualizado sobre la utilización de la Metodología Q para estudiar la percepción social de los temas y problemas ambientales. La Metodología Q puede ayudar a entender la diversidad de opiniones y la amplia variedad de perspectivas que existen sobre estos temas. Este método es innovador porque combina técnicas cualitativas con el rigor estadístico del análisis cuantitativo. La Metodología Q es particularmente útil para revelar las opiniones de algunas minorías que son frecuentemente subestimadas o ignoradas por los grupos de mayor poder político o económico. A modo de ejemplo, se presentan brevemente resultados de algunos casos de estudio en la provincia de Salta. Los resultados obtenidos en estos estudios muestran cómo la utilización de la Metodología Q puede contribuir a que la toma de decisiones políticas sea más inclusiva y que los sistemas socio-ecológicos del futuro sean más equilibrados, justos y sustentables.

Palabras clave: Estudios de caso; Metodología Q; Percepción social; Salta

Abstract

This article provides an updated overview of the use of Q Methodology to study the social perception of environmental issues and problems. Q Methodology can help understand the diversity of opinions and the wide variety of perspectives that usually exist on these issues. This method is innovative because it combines qualitative techniques with the statistical rigor of quantitative analysis. Q Methodology is particularly useful for revealing the opinions of minorities that are often underestimated or ignored by groups with greater political or economic power. Results from case studies in the province of Salta are briefly presented. The results obtained in these studies show how the use of Q Methodology can contribute to more inclusive political decision-making and future social-ecological systems that are balanced, fair, and sustainable.

Keywords: Case studies; Q Method; Salta; Social perception

Seghezzo, L. (2024). Perspectivas Sociales y Ambiente. Aspectos Teóricos y Prácticos de la Aplicación de la Metodología Q en Estudios de Percepción Social sobre Problemas Ambientales. Revista Ciencias Naturales, 2(1), 47-60.

Recibido: 20/12/2023 Aceptado: 8/3/2024 Publicado: 15/3/2024 Editor: Juan Micheloud

INTRODUCCIÓN

Según H. C. Brookfield, un geógrafo australiano considerado uno de los pioneros de la ecología política, las personas que operan en un determinado ambiente no basan sus decisiones sólo en el ambiente "real" sino en un ambiente "percibido" o "construido" por ellos que combina datos empíricos con apreciaciones subjetivas (Brookfield, 1969). Las acciones resultantes de estas decisiones y sus efectos materiales permiten conocer mejor la idiosincrasia, la cultura, o la visión del mundo de quienes las toman. El contraste y potencial conflicto entre ambiente objetivo y subjetivo resalta la importancia de estudiar a los actores y sus perspectivas sociales como insumo para el análisis y resolución de problemas ambientales y para la toma de decisiones de gestión. En rigor, todos los problemas ambientales tienen algún componente social (la mera calificación de algo como un "problema" ya involucra al ser humano), por lo que se los puede considerar siempre como problemas "socioambientales".

El interés por la percepción social de las relaciones entre la naturaleza y la sociedad (el ambiente y el ser humano) ya tiene más de un siglo (Brookfield, 1969; Grossman, 1977; Porter, 1978). Antropólogos y geógrafos, pero también sociólogos y sicólogos, estudiaron la percepción social del ambiente con aproximaciones teóricas y metodológicas diferentes ya desde principios del siglo veinte (Grossman, 1977). Desde la antropología, se enfatizaron los análisis de discursos y los enfoques etno-ecológicos. Los geógrafos se focalizaron en la relación entre la percepción del ambiente y la toma de decisiones, cuestionando a veces la validez de los modelos etnográficos o etnoecológicos como un reflejo de las perspectivas sociales de las personas entrevistadas. Más allá de algunas disputas disciplinarias, se podría decir que un denominador común de los estudios de percepción social del ambiente es el interés, en mayor o menor grado, en la relación entre el ambiente real, la percepción de ese ambiente, el comportamiento humano observable y la toma de decisiones políticas o de gestión.

Desde el inicio de los estudios sobre percepción social, estuvo claro que "*el ambiente se experimenta como una red continua ... y que las expectativas o el comportamiento humano reaccionan a [los aspectos físicos y sociales] de manera combinada, no aislada*" (Lowenthal, 1972, 335). Sin embargo, todavía no existía consenso sobre cuáles eran las evidencias empíricas requeridas o aceptables en estudios de percepción social, ya que las herramientas metodológicas eran distintas (cuestionarios y encuestas en sociología, trabajo con pacientes en sicología, observación participante en antropología, o estudios de archivo en historia). Las técnicas cuantitativas tales como la correlación estadística o el análisis factorial sólo empezaron a usarse más recientemente para evaluar percepciones, elecciones y preferencias. Estas técnicas permiten alcanzar resultados más sofisticados y, sobre todo, demostrables y repetibles.

La participación pública es cada vez más relevante en la toma de decisiones sobre temas socioambientales por razones éticas, pero también porque permite a gobiernos y empresas entender mejor lo que piensan los individuos o grupos sociales potencialmente afectados por sus acciones y políticas actuales o futuras (Reed *et al.*, 2009). Además, se ha demostrado que la toma de decisiones ambientales se ve beneficiada con la participación de los actores involucrados ya que se maximiza la coproducción de conocimiento y se mejora el abordaje de los complejos desafíos de la sustentabilidad (Norström *et al.*, 2020). Los conflictos sectoriales también se pueden reducir mediante la participación, en particular los relacionados con problemas socioambientales que parecen imposibles de resolver y dividen a las sociedades locales (Lewicki *et al.*, 2003; Weber *et al.*, 2017). La idea de que las actividades productivas son irreconciliables con la conservación del medio ambiente o con la protección de los modos de vida locales, por ejemplo, genera discursos dicotómicos tipo "producción versus conservación" y profundiza visiones divergentes que pueden estar basadas tanto en interpretaciones diferentes de la realidad

como en posturas éticas antagónicas (Robbins, 2006; Miller *et al.*, 2011; Robinson, 2011). Los debates planteados en esos términos terminan ignorando o subestimando la amplia variedad de percepciones que suelen existir en la sociedad sobre estos temas complejos.

El estudio de la percepción social de las relaciones naturaleza-sociedad creció de manera significativa gracias al uso de la Metodología Q (Barry & Proops, 1999; Addams & Proops, 2000; Robbins & Krueger, 2000; Eden *et al.*, 2005; Robbins, 2005). Este método es una combinación de aplicaciones matemáticas estandarizadas con un análisis riguroso y documentado de los discursos y puede ser una herramienta que evite o minimice los sesgos culturales, personales o de clase que se han observado en investigaciones basadas sólo en entrevistas. La Metodología Q se está utilizando cada vez más para estudiar la percepción social sobre diferentes temas socioambientales, como mostraron recientemente Sneegas *et al.* (2021) y Seghezzo *et al.* (2023) mediante análisis bibliométricos y una revisión sistemática de la bibliografía. Algunos temas específicos que han sido estudiados con Metodología Q son la gobernanza ambiental (Brannstrom, 2011), la gestión del agua (Vugteveen *et al.*, 2010; Iribarnegaray *et al.*, 2014; 2021), las energías renovables (Ellis *et al.*, 2007; Cuppen *et al.*, 2010; Brannstrom *et al.*, 2011; Frate & Brannstrom, 2017), el manejo de bosques (Steelman & Maguire, 1999), la gestión de incendios forestales (Ray, 2011), la producción agrícola (Davies & Hodge, 2012; Walder & Kantelhardt, 2018), iniciativas vinculadas al cambio climático (Lansing, 2013), los servicios ecosistémicos (Scholte *et al.*, 2015; Hermelingmeier & Nicholas, 2017; Maki Sy *et al.*, 2018), la conservación de la biodiversidad (Niedziałkowski *et al.*, 2018) y los procesos de deforestación (Huaranca *et al.*, 2019), entre otros.

Este artículo comienza con una descripción de los elementos fundamentales de la Metodología Q. Esta descripción puede ser utilizada como una guía para la elaboración de estudios de percepción social. Se presenta luego un breve resumen de algunos estudios de percepción social realizados en la provincia de Salta por el Grupo de Estudios e Investigaciones Socio-Ambientales (GEISA) del INENCO.

La Metodología Q

La Metodología Q es una técnica para el análisis sistemático y riguroso de la subjetividad humana que combina métodos cualitativos con el rigor estadístico del análisis cuantitativo (McKeown & Thomas, 1988). Su inventor fue el físico y sicólogo William Stephenson, un discípulo de Charles Spearman, a quien se considera el padre del análisis factorial (Brown, 1996). Stephenson, que trabajaba en la Universidad de Oxford, publicó en la revista *Nature* en 1935 lo que él llamó inicialmente Técnica Q, una técnica que continuaría desarrollando y perfeccionando en los años siguientes (Stephenson, 1953; 1965). La Metodología Q entiende a la subjetividad como la manera en que cada persona tiene y comunica sus puntos de vista. La subjetividad es auto-referenciada y se vincula, por definición, con un "sujeto", lo cual implica que está directamente relacionada con la persona y su marco de referencia geográfico, histórico, cultural y personal. Se acepta que, de no mediar situaciones de manipulación externa, cada persona habla por sí misma y expresa lo que piensa sin limitaciones. Esto significa que la subjetividad es "operante", o sea que la forma de pensar de una persona la lleva a operar en la realidad de una manera determinada. Esta característica es lo que da el sustento teórico a la Metodología Q como una manera de detectar esa subjetividad operante con métodos estadísticos. Este método se centra en las personas, o en grupos de personas que piensan de manera similar, y no en sus opiniones específicas (Watts & Stenner, 2012). Esto significa que, a diferencia de las encuestas tradicionales, la Metodología Q no analiza la opinión de una cierta proporción (o una muestra representativa) de la población sobre algún tema determinado, sino que busca identificar y comprender a todas las perspectivas diferentes que existen sobre ese tema.

En la Metodología Q, las perspectivas sociales se identifican analizando el grado de acuerdo o desacuerdo que un número relativamente pequeño de participantes seleccionados de manera deliberada y orientada (no al azar) manifiesta en relación a un conjunto de frases vinculadas al tema de estudio. Las frases que se presentan a los participantes pueden ser complejas y deben ser interpretadas siempre en el contexto del resto de las frases y no de manera aislada. Esa complejidad implica que las frases pueden tener significados diferentes para diferentes participantes, en función de su experiencia o conocimiento del tema. Por esta razón, se dice que la Metodología Q tiene el potencial de develar las racionalidades individuales que muchas veces permanecen ocultas en las encuestas convencionales (Steelman & Maguire, 1999; Zabala & Pascual, 2016). Una vez que los patrones de respuesta de los entrevistados se analizan mediante análisis factorial, es posible detectar correlaciones entre participantes que tienen puntos de vista similares y pertenecen, por lo tanto, al mismo "factor", es decir a la misma perspectiva social. Los factores son generalizaciones de las actitudes que tienen las personas con respecto a un tema determinado, lo cual permite realizar comparaciones entre ellos. Como señalaron Brannstrom *et al.* (2011), el uso de la Metodología Q en la investigación científica no sólo permite identificar perspectivas sociales de manera empírica, sino que además promueve la interacción entre investigadores y encuestados de una manera que puede conducir a la generación de nuevo conocimiento sobre los temas en estudio.

Si bien la subjetividad es difícil de demostrar fehacientemente, ya que una persona podría responder de una manera que no se corresponda con lo que realmente piensa sobre un tema, lo que hace la Metodología Q es analizar la estructura de esa subjetividad con el objeto de observarla, compararla y estudiarla. En este sentido, no importa si lo que una persona responde es lo que realmente piensa, porque el estudio analiza lo que esa persona responde (su "discurso"), bajo el supuesto de que ese discurso refleja lo que piensa. En un estudio Q bien ejecutado, los participantes generalmente terminan expresando su verdadera opinión sobre el tema de estudio por dos razones principales: (a) las personas seleccionadas tienen una opinión fuerte sobre el tema de estudio ya que fueron seleccionadas justamente en función de esa premisa; y (b) las frases que deben clasificar en función de su grado de acuerdo o desacuerdo no tienen respuestas obvias o "correctas" ya que todas las respuestas son igualmente válidas o socialmente aceptables, lo cual reduce al mínimo la posibilidad de obtener respuestas estratégicas o inducidas por el encuestador.

El origen del nombre de esta metodología no está totalmente claro, pero la versión más aceptada es que Stephenson usó esta letra para diferenciarla de las metodologías tipo "R", o sea la estadística convencional en la cual se usa mucho el coeficiente *r* o *R* (coeficiente de correlación de Pearson). En una típica encuesta R se buscan patrones en las respuestas de los participantes (a lo sumo ordenadas según edad, género, nacionalidad). Un estudio tipo R se basa casi siempre en sólo una o pocas preguntas simples, con respuestas que generalmente no dependen del contexto (por ejemplo, por quién se va a votar en las próximas elecciones). En contraposición, un estudio Q busca patrones entre los participantes, no en las respuestas. En una investigación tipo R, la población bajo estudio es la población propiamente dicha, la muestra es la gente que responde a la encuesta, y las variables son las preguntas que se hacen durante las entrevistas. En cambio, los sujetos y las variables están invertidas en la Metodología Q: los "sujetos" son la muestra de frases que se deben clasificar y las "variables" pasan a ser ahora los propios participantes de las encuestas (en rigor, sus patrones de respuesta) (Tuler & Webler, 2006). En la Tabla 1 se muestra un resumen de la terminología específica utilizada en estudios con Metodología Q. Una descripción exhaustiva de esta terminología y de los procedimientos técnicos de la Metodología Q se puede consultar en Seghezzo & Brannstrom (2022).

Término	Breve descripción
Discurso	Universo de opiniones, posturas, posiciones y discursos sectoriales sobre el tema de estudio en un lugar determinado en el período de tiempo seleccionado.
Frases	Afirmaciones, enunciados o fotografías que forman parte del discurso y que provienen de fuentes primarias (entrevistas, consulta a expertos) o secundarias (artículos científicos, diarios, redes).
Participantes	Personas entrevistadas en el estudio, que no tienen que ser una muestra representativa de la población sino que deben reflejar el espectro de opiniones existente sobre el tema de estudio.
Patrones	Arreglos de las frases que realiza cada participante durante la entrevista en función de su grado de acuerdo o desacuerdo con ellas y que refleja su perspectiva indivi dual.
Factores	Son las perspectivas sociales que se conforman con los grupos de patrones de respuesta correlacionados matemáticamente entre sí.

Tabla 1. Terminología específica utilizada en estudios que utilizan la Metodología Q.

Un estudio Q se puede resumir en una serie de cinco pasos clave, de los cuales algunos son obligatorios pero otros pueden ser opcionales y seguirse sólo en casos específicos (Fig. 1) (ver Webler *et al.*, 2009 y Sneegas *et al.*, 2021, para más detalles). El objetivo de un estudio Q suele vincularse a un contexto específico o a una situación local que genera la necesidad de describir y entender mejor las diferentes perspectivas sociales existentes sobre un tema determinado. Muchas veces los estudios Q se han realizado con la idea de contribuir a la toma de decisiones, visibilizar la opinión de algunas minorías vulnerables, o reducir impactos o injusticias socioambientales asociadas a emprendimientos económicos o productivos. Los participantes de un estudio Q (Paso 1, Fig. 1) se eligen entre aquellos que tienen una opinión formada sobre el tema de estudio, tratando de reflejar la mayor amplitud posible de opiniones, por minoritarias que sean.

En el Paso 2 (Fig. 1) se deben elegir las frases más representativas del discurso existente sobre el tema. Se pueden obtener frases a partir de entrevistas previas con actores locales relevantes. Estas entrevistas pueden servir para aclarar algunos aspectos sobre el contexto local. Las frases provienen también de fuentes impresas como diarios, boletines, debates públicos, audiencias, y artículos científicos, entre otras fuentes. Se suelen recopilar cientos de frases y la selección final se realiza mediante una combinación de diseño inductivo o deductivo para reducir el conjunto inicial de frases a un número manejable, por lo general entre 20 y 60 (Dryzek & Berejikian, 1993; Addams & Proops, 2000; van Eeten, 2000; Woolley & McGinnis, 2000). Las frases deben ser: (a) relevantes, o sea que tengan un sentido claro para los participantes; (b) entendibles, y planteadas en lenguaje sencillo y directo; y (c) opinables, lo cual implica que deben motivar una reflexión y generar una opinión definida. A veces las frases se dividen en distintas categorías o temas que permiten entender mejor los distintos aspectos del problema bajo estudio. Las categorías pueden resultar de una clasificación específica realizada por los investigadores, pueden reflejar teorías ya existentes sobre el tema, o pueden surgir de un proceso de codificación de datos cualitativos aplicado al universo de frases recopiladas. La sistematización del discurso y su división en temas se puede realizar utilizando software de análisis cualitativo de datos tales como MAXQDA u otros.

Una vez seleccionados los participantes y las frases, las entrevistas de un estudio Q (Paso 3, Fig. 1) se pueden realizar de manera individual o grupal. Durante las entrevistas, los participantes seleccionados deben distribuir las frases en una grilla de respuestas que refleja generalmente una distribución cuasi normal

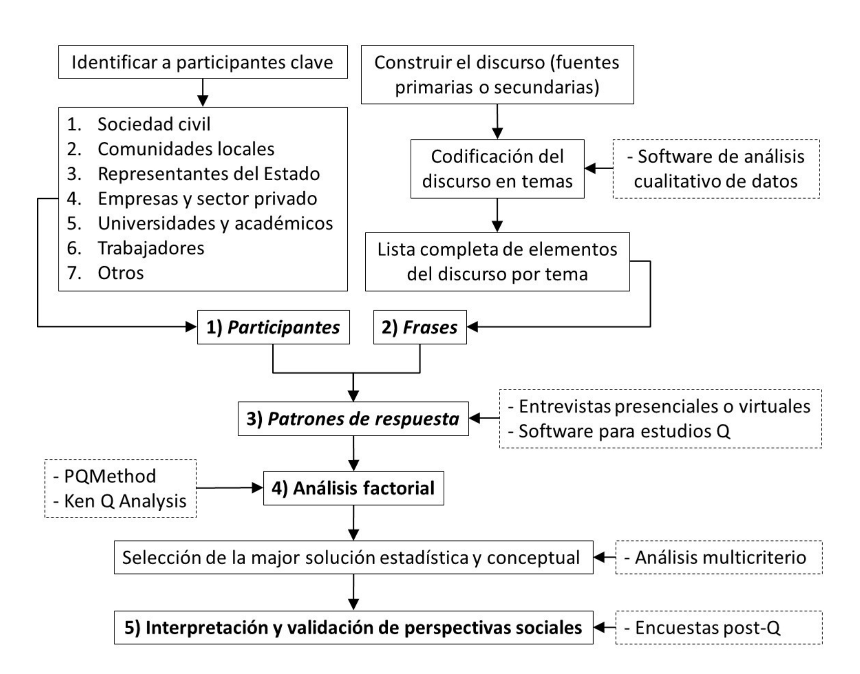


Figura 1. Esquema metodológico típico de un estudio con Metodología Q. PQMethod y Ken Q Analysis son aplicaciones libres y gratuitas para analizar datos de un estudio Q.

en la que los encuestados deben ordenar las frases en función de su grado de acuerdo o desacuerdo con ellas (ver ejemplo para 68 frases en la Fig. 2). La ubicación de las frases en las columnas es irrelevante, ya que todas las celdas de cada columna reciben la misma valoración. El punto cero de indiferencia o de “no relevancia” se llama también “cero distensivo”. El hecho de que se intente forzar una distribución cuasi normal se fundamenta en que esta forma ayuda a los participantes a revelar sus preferencias de manera más eficiente. En los estudios Q tradicionales, la grilla de respuesta y las tarjetas con las frases se imprimen y se acomodan físicamente en la grilla por cada participante. También existen softwares que permiten realizar este paso de manera remota. Los participantes de un estudio Q pueden mantener su anonimato, ya que sólo importa su afiliación a un determinado grupo social o de interés y no su identidad. Durante la entrevista también se pueden realizar preguntas para obtener justificaciones sobre la clasificación realizada y enriquecer luego la interpretación de las perspectivas sociales (Robbins, 2005).

El análisis factorial (Paso 4, Fig. 1) se realiza para analizar los patrones de respuesta y encontrar correlaciones entre ellos que permitan armar grupos relativamente homogéneos (los factores o perspectivas sociales). Generalmente se utiliza un software específico como el PQMethod 2.20, un programa de libre acceso desarrollado por Peter Schmolck de la Universidad Federal de Munich, Alemania, o el Ken-Q Analysis 1.0.6, una aplicación disponible en internet que es compatible con Windows. El programa realiza tres procesos estadísticos básicos: (1) calcula la matriz de correlación; (2) extrae y rota los factores significativos mediante análisis de componentes principales; y (3) define los valores de cada factor modelo (valores de Z expresados en desviaciones estándar) (Addams & Proops, 2000). Normalmente, se extraen de dos a cuatro factores después de la rotación utilizando una serie de criterios estadísticos definidos (ver Sneegas *et al.*, 2021). Entre ellos, que el valor propio (Eigenvalue) de la matriz sea superior a 1, que los factores, además de significación estadística, tengan sentido teórico, y que haya al menos 2 o 3 participantes por perspectiva social. Una vez realizado el análisis factorial, se debe realizar una interpretación cualitativa de los resultados obtenidos (Paso 5, Fig. 1).

Normalmente, las frases más sustanciales o distintivas estadísticamente y que hayan

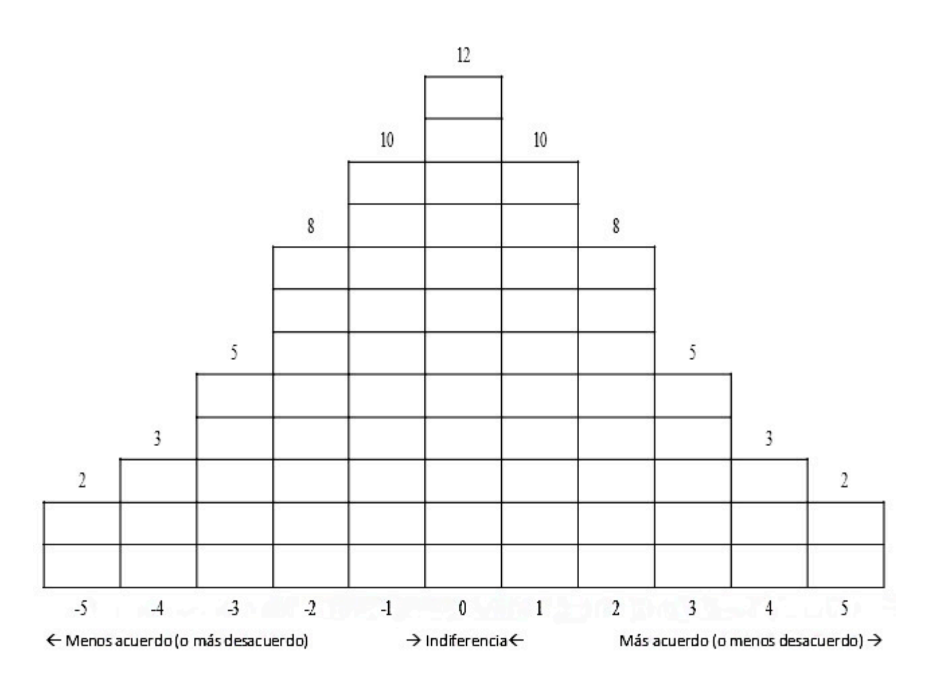


Figura 2. Ejemplo de una grilla cuasi normal que se utiliza en la Metodología Q. Los valores ubicados debajo de la grilla indican el grado de acuerdo o desacuerdo con las frases. Los números ubicados sobre la grilla indican la cantidad de frases posibles en cada columna (la ubicación en las columnas es irrelevante).

recibido calificaciones más extremas (máximo acuerdo o desacuerdo) son las más útiles para describir cualitativamente los factores. Interpretar los factores y asignarles una denominación clara y concisa es probablemente "*la fase más problemática*" de la Metodología Q, según Eden *et al.* (2005, 419). Para la descripción de los factores es importante indicar claramente cuál es la frase que sustenta cada característica del factor mediante la mención del número de frase (por ejemplo #1 o #23), el valor normalizado asignado a esa frase en ese factor (entre −5 y +5) y su significación estadística (* para p<0,05 y ** para p<0,01). En general, no se recomienda utilizar frases sin significación estadística para describir los factores aunque en algunos casos pueden servir para reforzar la narrativa. Los factores se suelen identificar con un nombre simple que describa suscintamente sus características dominantes. No se deben usar nombres para los factores que remitan a la identidad de los participantes (como "productores", "académicos", o "funcionarios") ya que la identidad no necesariamente determina la pertenencia a una perspectiva social determinada.

Como indican Webler *et al.* (2009, 35), "*uno de los usos interesantes de la Metodología Q es ayudar a los grupos a entender en qué están de acuerdo y en qué no*". Por tal motivo, se puede proporcionar también un análisis comparativo entre las perspectivas para comprender mejor las diferencias y similitudes entre ellas. Con este fin, puede ser útil tener en cuenta no sólo los puntos de desacuerdo entre las perspectivas, resaltados por las frases distintivas, sino también los puntos de acuerdo reflejados en las frases de consenso estadísticamente relevantes. La validación final de los resultados obtenidos es un paso opcional, aunque recomendado. Esta validación se puede hacer luego del estudio mediante entrevistas a participantes cuyos patrones de respuesta más se asemejan a los patrones modelo que definieron las perspectivas sociales.

Aplicación de la Metodología Q a casos de estudio

En el GEISA se iniciaron los estudios de percepción social sobre temas socio-ambientales en el año 2012. El primer

trabajo realizado fue la identificación de las perspectivas sociales existentes en la ciudad de Salta sobre la eficiencia y la equidad del sistema de gestión del agua y el saneamiento ambiental (Iribarnegaray *et al.*, 2014). Más adelante se realizó un estudio de percepción social sobre deforestación, cambio de uso del suelo y desarrollo económico en la provincia de Salta (Huaranca *et al.*, 2019). También se estudiaron las perspectivas sociales sobre los sistemas descentralizados de tratamiento de aguas residuales (SDTAR) en el área metropolitana del Valle de Lerma, el área más densamente poblada de la provincia de Salta (Sorani *et al.*, en prensa). Recientemente se contribuyó en el proceso de revisión del Ordenamiento Territorial de Bosques Nativos (OTBN) de la provincia de Salta identificando las perspectivas sociales de los actores participantes de este proceso (SAyDS *et al.*, 2023). Estos cuatro estudios se describen en detalle más abajo.

Además de estos estudios locales y regionales, se trabajó en la identificación de diferentes ideas de sustentabilidad relativas a las políticas sobre la gestión del agua en Phoenix, Arizona, Estados Unidos (Iribarnegaray *et al.*, 2021), se estudiaron las perspectivas sociales sobre desalinización y reúso de aguas residuales en Texas, Estados Unidos (Brannstrom *et al.*, 2022) e Israel (Sneegas *et al.*, 2022) y se analizaron los desafíos para la sustentabilidad del sector global de la desalinización de agua (Figueroa *et al.*, en prensa). Además, se publicaron dos trabajos de revisión sobre la aplicación de la Metodología Q en estudios e investigaciones sobre sustentabilidad (Sneegas *et al.*, 2021) y sobre planificación y gestión ambiental (Seghezzo *et al.*, 2023).

Caso 1: Políticas de conservación del agua en perspectiva: resultados de un estudio de Metodología Q en Salta, Argentina

En este trabajo se analizó la relación entre las perspectivas sociales y el grado de éxito de algunas iniciativas que puso en práctica la Compañía Salteña de Agua y Saneamiento S.A. (CoSAySa – Aguas del Norte), empresa prestadora del servicio de agua y saneamiento en la ciudad de Salta, con el objetivo de reducir el consumo de agua potable (Iribarnegaray *et al.*, 2014). Se analizaron en particular dos iniciativas: (a) instalación de medidores domiciliarios de agua; y (b) campañas de concientización sobre el ahorro de agua (Fig. 3).

Los participantes de este estudio fueron 29 personas pertenecientes a seis grupos diferentes: (1) gerentes de empresas de agua, personal técnico y representantes de relaciones públicas; (2) funcionarios gubernamentales del Ente Regulador de los Servicios Públicos, la Secretaría de Recursos Energéticos y el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INTA); (3) miembros de



Figura 3. Campaña de concientización para el ahorro de agua lanzada por la Compañía Salteña de Agua y Saneamiento S.A. (CoSAySa).

Organizaciones No Gubernamentales (ONG) activas en temas relacionados con el agua; (4) usuarios de agua en general y clientes de agua pertenecientes a organizaciones ciudadanas en áreas de la ciudad con problemas de suministro o saneamiento de agua; (5) académicos e investigadores científicos que trabajan en tratamiento de agua, producción más limpia y sociología del agua; y (6) ingenieros ambientales y estudiantes de ciencias ambientales. El universo temático o discurso se obtuvo a partir de un análisis de medios de comunicación locales, actas de congresos, artículos científicos, entrevistas y nuestra propia experiencia sobre agua y saneamiento en la región. Las frases se organizaron en cuatro temas: (1) Proveedor del servicio; (2) Derechos al agua; (3) Participación pública; y (4) Disponibilidad de agua. De las más de 150 frases posibles en el discurso inicial, se seleccionaron 68, divididas entre 13 a 20 frases por tema. El análisis factorial de las entrevistas generó una solución óptima de cuatro factores o perspectivas: (Perspectiva A) Defensores del consumidor por el derecho al agua; (Perspectiva B) Propulsores de una gestión técnica del agua basada en el mercado; (Perspectiva C) Promotores de una gobernanza participativa; y (Perspectiva D) Defensores de la gobernanza estatal.

Los resultados del estudio aportaron evidencia de que las campañas publicitarias y la instalación de medidores no son suficientes para reducir el consumo de agua potable. El aparente fracaso de estas iniciativas podría atribuirse, por lo menos en parte, a que no se tuvo en cuenta la diversidad de perspectivas sociales existentes en la ciudad respecto la gestión del agua. De hecho, los usuarios no creen que exista escasez de agua en la zona y responsabilizan principalmente a la empresa por los derroches de agua que se observan en la ciudad (caños rotos, pérdidas en la vía pública, etc.). El estudio realizado podría ser útil para que los prestadores del servicio de agua tomen medidas internas de control de pérdidas antes de instalar medidores domiciliarios como única medida de reducción del consumo de agua potable.

Caso 2: Perspectivas sociales sobre deforestación, cambio de uso del suelo, y desarrollo económico en una frontera agropecuaria en expansión en el Norte de Argentina

El objetivo del trabajo fue determinar si estas perspectivas reflejaban lo que los medios de comunicación describían como una supuesta confrontación irreconciliable entre “productivistas” y “conservacionistas” que se reflejaba constantemente en campañas publicitarias en favor de una u otra posición (ver, por ejemplo, la Fig. 4).



Figura 4. Campaña de una organización ambientalista en contra de los desmontes ilegales. Foto: Martín Katz. https://www.greenpeace.org/argentina/blog/problemas/bosques/fotogaleria-del-desmonte-ilegal-en-argentina-asi-se-ve-el-ecocidio-en-salta/

Para este trabajo se entrevistó a 60 actores locales divididos en ocho categorías: (1) profesionales de la agricultura; (2) funcionarios gubernamentales; (3) ONG ambientales; (4) ONG socioculturales; (5) grandes pro-ductores; (6) pequeños productores; (7) académicos e investigadores; y (8) estudiantes universitarios. Las fuentes de información para la generación de frases incluyeron medios de comunicación locales y nacionales, artículos técnicos y científicos, información de ONG y empresas privadas, participación en reuniones y mesas redondas, entrevistas formales, y conversaciones informales con todos los grupos de actores. Del listado final se seleccionaron 68 frases agrupadas en cinco temas: (1) Aspectos basados en el lugar; (2) Aspectos sociales y culturales; (3) Aspectos políticos y económicos; (4) Aspectos relacio-

nados con la gobernanza; y (5) Aspectos contextuales. La selección de temas se basó en una versión adaptada del marco general para analizar la sustentabilidad de los sistemas socioecológicos (Ostrom, 2009).

Se identificaron cuatro factores que denominamos: (Perspectiva A) Ambientalismo crítico; (Perspectiva B) Justicia ambiental y diálogo inclusivo; (Perspectiva C) Desarrollo local y apoyo a los pequeños productores; (Perspectiva D) Producción agropecuaria para una economía globalizada. Estas perspectivas sociales son más complejas que las posiciones supuestamente predominantes en materia de producción agropecuaria y conservación ambiental. En lugar de ajustarse las ideas de producción o conservación, las perspectivas sociales identificadas en este estudio revelaron diversos grados de preocupaciones ambientales y económicas que muchas veces se ocultan detrás de debates simplistas. Las cuestiones emergentes que definen y dividen las perspectivas sociales parecen estar más relacionadas con los derechos territoriales de los pueblos indígenas y el tipo de orientación de mercado necesaria para el desarrollo local o regional. Cambiar el foco de atención de las cuestiones de producción y conservación a los derechos sobre la tierra y el desarrollo económico podría ayudar a empoderar a minorías como las comunidades indígenas y los pequeños productores agropecuarios al revalorizar tanto su presencia en la región como su rol clave en la protección de los sistemas socioecológicos locales. Nuestro estudio también mostro cómo las discusiones generadas antes, durante y después de la aprobación de la Ley Nacional N°26.331 de Presupuestos Mínimos de Protección Ambiental de los Bosques Nativos (Ley de Bosques) en 2007 contribuyeron a endurecer posturas extremas que terminan favoreciendo sólo a pequeños grupos con poder político o económico.

Caso 3: ¿Única opción o solución pragmática? Perspectivas sociales sobre sistemas descentralizados de tratamiento de aguas residuales en el Norte de Argentina

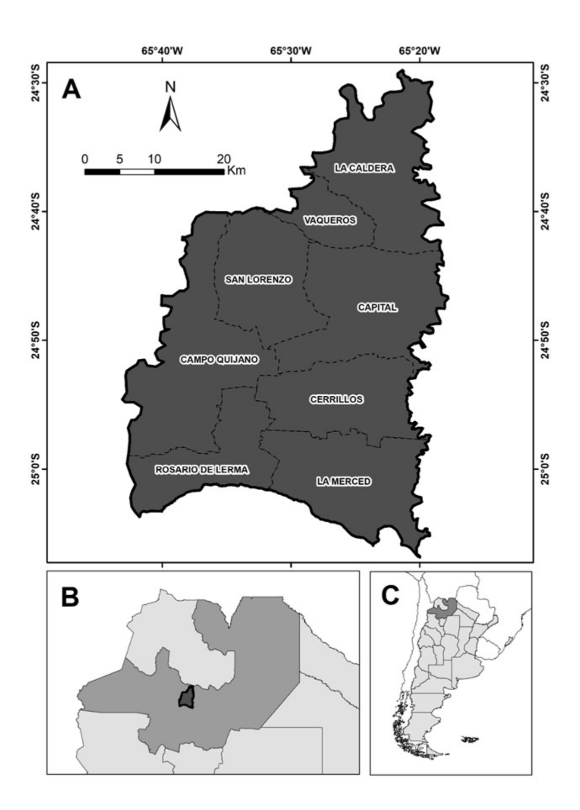


Figura 5. Municipios del Área Metropolitana del Valle de Lerma (A) en la provincia de Salta (B), Argentina (C).

En este artículo, identificamos las perspectivas sociales sobre los sistemas descentralizados de tratamiento de aguas residuales (SDTAR) en el área metropolitana del Valle de Lerma, el área más densamente poblada de la provincia de Salta (Fig. 5) (Sorani *et al.*, en prensa). En esta zona existen varias lagunas legales e institucionales relacionadas con el establecimiento y aplicación de estándares técnicos y ambientales y, en consecuencia, estos sistemas casi siempre son construidos, operados y mantenidos por los mismos propietarios, con poca o ninguna supervisión por parte de las autoridades locales. Las frases se obtuvieron de varias fuentes, incluidos artículos científicos y técnicos, un taller con actores locales, seminarios y debates públicos, periódicos y entrevistas personales con algunos miembros de instituciones privadas y gubernamentales. Seleccionamos 42 frases finales organizadas en tres temas: (1) Aspectos legales e institucionales; (2) Conciencia ambiental; y (3) Aspectos técnicos y económicos. Participaron del estudio 18

personas (sobre un total de 25 invitadas) provenientes de varias instituciones y organizaciones con interés sobre el tema y capacidad de toma de decisiones, incluida la empresa de agua (Aguas del Norte), la agencia regulatoria gubernamental (Ente Regulador de los Servicios Públicos), los municipios de la región, y la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable (SAyDS) de la provincia de Salta. También participaron asociaciones de usuarios y miembros de organizaciones no gubernamentales, profesionales, académicos y estudiantes avanzados de ciencias ambientales. La interacción con los participantes se llevó a cabo en una plataforma Q en línea diseñada y desarrollada por el equipo de investigación. Identificamos tres perspectivas sociales sobre el uso de estos sistemas: (Perspectiva A) Los SDTAR tienen ventajas; (Perspectiva B) Un camino hacia las cloacas; y (Perspectiva C) Procesos antes que tecnologías.

Los resultados sugieren que existe una amplia aceptación de los SDTAR como parte de un enfoque integral de saneamiento, aunque las razones para esa aceptación varían en las tres perspectivas identificadas. Sin embargo, las regulaciones y códigos de construcción locales no incluyen a estos sistemas como opciones válidas para el saneamiento domiciliario. Eso se atribuye en gran medida a que los miembros de la empresa de agua que participaron del estudio se revelaron como fuertes defensores de los sistemas centralizados de saneamiento. Esta empresa, que ha estado a cargo de la gestión del agua y el saneamiento en la provincia de Salta durante los últimos 25 años, ha afectado la capacidad de los municipios para gestionar las cuestiones de saneamiento en sus propios territorios y ha promovido un marco normativo focalizado totalmente en la gestión centralizada.

Caso 4: Identificación de perspectivas sociales con Metodología Q en el marco del proceso de revisión del Ordenamiento Territorial de Bosques Nativos (OTBN) de la provincia de Salta

Este estudio se realizó en el marco del proceso de revisión del Ordenamiento Territorial de Bosques Nativos (OTBN) de la provincia de Salta (SAyDS *et al.*, 2023). Este proceso fue llevado a cabo por diversas instituciones provinciales y nacionales en el marco del artículo 6° de la Ley de Bosques, que establece que cada jurisdicción deberá actualizar periódicamente el OTBN de su territorio. El objetivo de este trabajo fue contribuir al proceso de revisión del OTBN con insumos y productos que favorezcan la inclusión y la participación de todos los actores relevantes para un proceso de ordenamiento territorial más equitativo y sustentable. Las frases utilizadas durante las encuestas Q se basaron en el estudio de Huaranca *et al.* (2019). Estas frases fueron adaptadas, actualizadas y simplificadas para facilitar su uso con los diversos actores existentes en el territorio. Luego de este proceso, se seleccionaron las 48 frases más relevantes para el caso de estudio. Participaron del estudio 45 personas de las siguientes categorías: (1) Consultora o asesoría privada; (2) Organización no gubernamental;

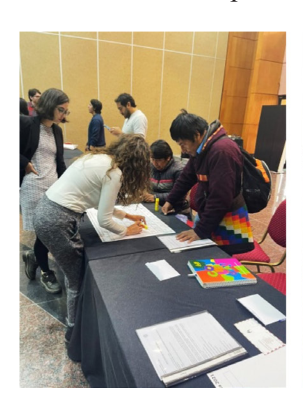



Figura 6. Realización de encuestas Q en la ciudad de Salta (izquierda) y durante visitas al territorio (derecha) con asesoramiento de personal de la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable (SAyDS) de la provincia de Salta.

(3) Poder ejecutivo nacional; (4) Poder ejecutivo provincial; (5) Poder judicial nacional; (6) Poder legislativo provincial; (7) Productor o asociación de productores; (8) Pueblos originarios; (9) Universidad o centro de investigación (Fig. 6).

Se identificaron cuatro perspectivas sociales que se organizaron en cuatro ejes principales: (a) conservación; (b) cultura; (c) producción; y (d) Estado. En función de sus características más distintivas, estas perspectivas fueron denominadas de la siguiente manera: (Perspectiva A) Respeto a la diversidad cultural; (Perspectiva B) Equilibrio entre Estado y mercado; (Perspectiva C) Producción agropecuaria sin deforestación; y (Perspectiva D) El campo es el motor de la economía. Los resultados fueron similares a los encontrados en el estudio previo realizado por Huaranca *et al.* (2019). La identificación de perspectivas sociales permitió organizar en grupos relativamente homogéneos a los participantes del taller que se convocó para la elaboración del mapa de zonificación exigido por la Ley de Bosques. Una descripción detallada del proceso de revisión del OTBN de Salta se pude consultar en SAyDS *et al.* (2023).

Comentarios finales

La Metodología Q se utiliza cada vez más para estudiar la percepción social sobre diferentes temas socioambientales. Es una metodología que combina métodos cualitativos y cuantitativos y que, a diferencia de las encuestas tradicionales, busca identificar la diversidad de opiniones existentes sobre un tema y no la cantidad de personas que suscriben a dichas opiniones. Por ello, es muy útil para revelar las opiniones de minorías que son generalmente subestimadas o ignoradas por los grupos de mayor poder político o económico. La Metodología Q es compatible con otras metodologías cualitativas tales como entrevistas, grupos focales, y observación participante, entre otras. De esta manera, es un método que agrega valor al estudio de la percepción social que se suele abordar desde otras ciencias sociales. En los casos descriptos en este trabajo, se muestra cómo la Metodología Q permitió identificar las perspectivas sociales existentes sobre diferentes temas y problemas socioambientales (agua, saneamiento ambiental, bosques, planificación territorial). En algunos de estos casos, el uso de esta metodología contribuyó a una toma de decisiones más inclusiva, justa y sustentable.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con financiamiento del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), la Universidad Nacional de Salta (UNSa), el Departamento de Geografía de la Universidad de Texas A&M (College Station, Texas, EEUU) y el Proyecto LITHIUM financiado por la Red Suiza de Estudios Internacionales (SNIS).

REFERENCIAS

Addams, H., & Proops, J. (Eds.) (2000). *Social discourses and environmental policy: An application of Q methodology*. Edward Elgar Publishing. Cheltenham and Northampton, MA, EEUU.

Barry, J., & Proops, J. (1999). Seeking sustainability discourses with Q methodology. *Ecological Economics*, 28, 337-345. 345. https://doi.org/10.1016/S0921-8009(98)00053-6

Brannstrom, C. (2011). A Q-method analysis of environmental governance discourses in Brazil's northeastern soy frontier. *The Professional Geographer*, 63(4), 531-549. https://doi.org/10.1080/00330124.2011.585081

Brannstrom, C., Jepson, W., & Persons, N. (2011). Social perspectives on wind-power development in west Texas. *Annals of the Association of American Geographers*, 101(4), 839-851. https://doi.org/10.1080/00045608.2011.568871

Brannstrom, C., Jepson, W., Beckner, S., Sneegas, G., & Seghezzo, L. (2022). Not a silver bullet: social perspectives on desalination and water reuse in Texas. *Urban Water Journal*, 19(10), 1025-1037. https://doi.org/10.1080/1573062X.2022.2134808

Brookfield, H.C. (1969) On the environment as perceived. En: C. Board, R. J. Chorley, P. Haggett, & D. R. Stoddart (Eds.), *Progress in Geography* (pp. 51-80). Edward Arnold. Londres, Reino Unido.

Brown, S. R. (1996). Q methodology and qualitative research. *Qualitative Health Research*, 6(4), 561-567. https://doi.org/10.1177/104973239600600408

Cuppen, E., Breukers, S., Hisschemöller, & M., Bergsma, E. (2010). Q methodology to select participants for a stakeholder dialogue on energy options from biomass in the Netherlands. *Eco-*

logical Economics, 69(3), 579-591. https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2009.09.005

Davies, B. B. & Hodge, I. D. (2012). Shifting environmental perspectives in agriculture: Repeated Q analysis and the stability of preference structures. *Ecological Economics*, 83, 51-57. https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2012.08.013

Dryzek, J.S., & Berejikian, J. (1993). Reconstructive democratic theory. *American Political Science Review*, 87(1), 48-60. https://doi.org/10.2307/2938955

Eden, S., Donaldson, A., & Walker, G. (2005). Structuring subjectivities? Using Q methodology in human geography. *Area,* 37(4), 413-422. https://doi.org/10.1111/j.1475-4762.2005.00641.x

Ellis, G., Barry, J., & Robinson, C. (2007). Many ways to say 'no', different ways to say 'yes': Applying Q-Methodology to understand public acceptance of wind farm proposals. *Journal of Environmental Planning and Management*, 50(4), 517-551. https://doi.org/10.1080/09640560701402075

Figueroa, C. Lee, K. Jepson, W. Seghezzo, L., & Brannstrom, C. (en prensa). Social perspectives on the sustainability challenges within the desalination sector: A Q-method study. *Sustainability: Science, Practice and Policy*.

Frate, C. A., & Brannstrom, C. (2017). Stakeholder subjectivities regarding barriers and drivers to the introduction of utility-scale solar photovoltaic power in Brazil. *Energy Policy*, 111, 346-352. https://doi.org/10.1016/j.enpol.2017.09.048

Grossman, L. (1977). Man-environment relationships in anthropology and geography. *Annals of the Association of American Geographers*, 67(1), 126-144. https://doi.org/10.1111/j.1467-8306.1977.tb01124.x

Hermelingmeier, V., & Nicholas, K. A. (2017). Identifying five different perspectives on the ecosystem services concept using Q methodology. *Ecological Economics*, 136, 255-265. https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2017.01.006

Huaranca, L. L., Iribarnegaray, M. A., Albesa, F., Volante, J. N., Brannstrom, C., & Seghezzo, L. (2019). Social perspectives on deforestation, land use change, and economic development in an expanding agricultural frontier in northern Argentina. *Ecological Economics*, 165, 106424. https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2019.106424

Iribarnegaray, M. A., de la Zerda, M. F. E., Hutton, C. M., Brannstrom, C., Liberal, V. I., Tejerina, W. A., & Seghezzo, L. (2014). Water-conservation policies in perspective: insights from a Q-method study in Salta, Argentina. *Water Policy*, 16(5), 897-916. https://doi.org/10.2166/wp.2014.159

Iribarnegaray, M. A., Sullivan, A., Rodriguez-Alvarez, M. S., Brannstrom, C., Seghezzo, L., & White, D. (2021). Identifying diverging sustainability meanings for water policy: A Q-method study in Phoenix, Arizona. *Water Policy*, 23(2), 291-309. https://doi.org/10.2166/wp.2021.033

Lansing, D. M. (2013). Not all baselines are created equal: A Q methodology analysis of stakeholder perspectives of additionality in a carbon forestry offset project in Costa Rica. *Global Environmental Change*, 23, 654-663. https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2013.02.005

Lewicki, R. J., Gray, B., & Elliott, M. (2003). *Making sense of intractable environmental conflicts: frames and cases*. Island Press. Washington, DC, EEUU.

Lowenthal, D. (1972). Research in environmental perception and behavior. Perspectives on current problems. *Environment and Behavior*, 4(3), 333-342. Disponible en: https://www.proquest.com/openview/35913e79a5b6f935dcbe32d30410a58c/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1821084

Maki Sy, M., Rey-Valette, H., Simier, M., Pasqualini, V., Figuièrese, C., & De Wit, R. (2018). Identifying consensus on coastal lagoons ecosystem services and conservation priorities for an effective decision making: A Q approach. *Ecological Economics*, 154, 1-13. https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2018.07.018

McKeown, B., & Thomas, D. (1988). *Q methodology. Quantitative Applications in the Social Sciences*. Sage Publications. Newbury Park, Londres, Reino Unido.

Miller, T. R., Minteer, B. A., & Malan, L. C. (2011). The new conservation debate: The view from practical ethics. *Biological Conservation*, 144, 948-957. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.04.001

Niedziałkowski, K., Komar, E., Pietrzyk-Kaszyńska, A., Olszańska, A., y Grodzińska-Jurczakd, M. (2018). Discourses on public participation in protected areas governance: Application of Q methodology in Poland. *Ecological Economics*, 145, 401-409. https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2017.11.018

Norström, A. V., Cvitanovic, C., Löf, M. F., West, S., Wyborn, C., Balvanera, P., Bednarek, A. T., *et al.* (2020). Principles for knowledge co-production in sustainability research. *Nature Sustainability*, 3(3), 182-190. https://doi.org/10.1038/s41893-019-0448-2

Ostrom, E. (2009). A general framework for analyzing sustainability of social-ecological systems. *Science*, 325, 419-422. https://doi.org/10.1126/science.1172133

Porter, P. W. (1978). Geography as human ecology. A decade of progress in a quarter century. *The American Behavioral Scientist*, 22(1), 15-39. https://doi.org/10.1177/000276427802200102

Ray, L. (2011). Using Q methodology to identify local perspectives on wildfires in two Koyukon Athabascan comunities in rural Alaska. *Sus-*

tainability: Science, Practice, and Policy, 7(2), 18-29. https://doi.org/10.1080/15487733.2011.11908070

Reed, M. S., Graves, A., Dandy, N., Posthumus, H., Hubacek, K., Morris, J., Prell, C., Quinn, C. H., & Stringer, L. C. (2009). Who's in and why? A typology of stakeholder analysis methods for natural resource management. *Journal of Environmental Management*, 90 (5), 1933-1949. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2009.01.001

Robbins, P. (2005). Q methodology. En K. Kempf-Leonard (Ed.), *Encyclopedia of Social Measurement 3*, (pp. 209-215). Academic. San Diego, CA, EEUU.

Robbins, P. (2006). The politics of barstool biology: Environmental knowledge and power in greater Northern Yellowstone. *Geoforum*, 37, 185-199. https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2004.11.011

Robbins, P., & Krueger, R. (2000). Beyond bias? The promise and limits of Q Method in Human Geography. *Professional Geographer*, 52(4), 636-648. https://doi.org/10.1111/0033-0124.00252

Robinson, J. G. (2011). Ethical pluralism, pragmatism, and sustainability in conservation practice. *Biological Conservation*, 144, 958-965. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.04.017

Scholte, S. S. K., van Teeffelen, A. J. A., & Verburg, P. H. (2015). Integrating socio-cultural perspectives into ecosystem service valuation: A review of concepts and methods. *Ecological Economics*, 114, 67-78. https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2015.03.007

Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable (SAyDS), Instituto Nacional de Tecnología Agro- pecuaria (INTA), Instituto de Investigaciones en Energía No Convencional (INENCO), Universidad Nacional de Salta (UNSa), Instituto Nacional de Asuntos Indígenas (INAI), & Administración de Parques Nacionales (APN) (2023). *Proceso de revisión del Ordenamiento Territorial de Bosques Nativos (OTBN) de la provincia de Salta*. SAyDS. Salta, Argentina.

Seghezzo, L., & Brannstrom, C. (2022). La Metodología Q para el análisis cuali-cuantitativo de las percepciones sociales sobre las energías renovables. En C. Brannstrom, L. Seghezzo, & A. Gorayeb (Eds.), *Descarbonización en América del Sur. Conexiones entre Brasil y Argentina* (pp. 82-103). Ediciones UERN. Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil.

Seghezzo, L., Sneegas, G., Jepson, W., Brannstrom, C., Beckner, S., & Lee, K. (2023). The use and potential of Q method in environmental planning and management. Journal of Environmental Planning and Management. https://doi.org/10.1080/09640568.2023.2207727

Sneegas, G., Beckner, S., Brannstrom, C., Jepson, W., Lee, K., & Seghezzo, L. (2021). Using Q-methodology in environmental sustainability research: A bibliometric analysis and systematic review. *Ecological Economics*, 180, 106864. https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2020.106864

Sneegas, G., Seghezzo, L., Brannstrom, C., Jepson, W., & Eckstein, G. (2022). Do not put all your eggs in one basket: social perspectives on desalination and water recycling in Israel. *Water Policy*, 24(11), 1772-1795. https://doi.org/10.2166/wp.2022.085

Sorani, J., Seghezzo, L., Brannstrom, C., Rodriguez-Alvarez, M. S., Albesa, F., & Iribarnegaray, M. A. (en prensa). Option of last resort or pragmatic solution? Social perspectives on onsite wastewater treatment systems in northern Argentina. *Urban Water Journal*.

Steelman, T. A., & Maguire, L. A. (1999). Understanding participant perspectives: Q-Methodology in national forest management. *Journal of Policy Analysis and Management*, 18(3), 361-388.

Stephenson, W. (1953). *The study of behavior; Q-technique and its methodology*. University of Chicago Press. EEUU.

Stephenson, W. (1965). Definition of opinion, attitude and belief. *The Psychological Record*, 15, 281-288. https://doi.org/10.1007/BF03393596

Tuler, S., & Webler, T. (2006). Competing perspectives on a process for making remediation and stewardship decisions at the rocky flats environmental technology site. En T. M. Leschine (Ed.), *Long-term management of contaminated sites (Research in social problems and public policy, Vol. 13)* (pp. 49-77). Emerald Group Publishing Limited. Leeds, Reino Unido.

van Eeten, M. (2000). Recasting environmental controversies: A Q study of the expansion of Amsterdam airport. En H. Addams, & J. Proops (Eds.), *Social Discourse and Environmental Policy: An Application of Q Metho dology* (pp. 41-70). Edward Elgar Publishing. Cheltenham and Northampton, MA, EEUU.

Vugteveen, P., Lenders, H. J. R., Devilee, J. L. A., Leuven, R. S. E., Van der Veeren, R. J. H. M., Wiering, M. A., & Hendriks, A. J. (2010). Stakeholder value orientations in water management. *Society and Natural Resources*, 23(9), 805-821. https://doi.org/10.1080/08941920903496952

Walder, P., & Kantelhardt, J. (2018). The environmental behaviour of farmers - Capturing the diversity of perspectives with a Q Methodological approach. *Ecological Economics*, 143, 55-63. https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2017.06.018

Watts, S., & Stenner, P. (2012). *Doing Q metho dological research: theory, method and interpretation*. SAGE. Los Angeles, CA, EEUU.

Weber, E. P., Lach, D., & Steel, B. S. (2017). *New strategies for wicked problems: science and solutions in the twenty-first century*. Oregon State University Press. Corvallis, EEUU.


REVISTA CIENCIAS NATURALES
Facultad de Ciencias Naturales · Universidad Nacional de Salta

ISSN 2953-5441
Vol. 2(1): 61-62



Rodolfo Fernando García Maurizzio
(1962 - 2023)

Nació el 26 de octubre de 1962 en la provincia de Jujuy. Siendo niño, junto a su familia, se trasladó a la ciudad de Salta, donde cursó sus estudios primarios, secundarios y universitarios, y vivió el resto de su vida.

Rodolfo fue geólogo y doctor en Ciencias Geológicas, apasionado por el estudio y la comprensión del agua subterránea. Se desempeñó como director del INASLA, Instituto de Aguas Subterráneas para Latinoamérica (Universidad Nacional de Salta), como profesor titular de la Especialidad Geociencias del Litio (Universidad Nacional de la Plata), como profesor asociado de la Cátedra de Geología Económica de Proyectos, y Profesor Adjunto de la Cátedra de Hidrogeología - Geología de los Recursos Hídricos de la Universidad Nacional de Salta. Desde esos roles, fue director de tesistas de grado, maestrías y tesis doctorales, autor de publicaciones y libros, relacionados a los recursos hídricos subterráneos, e integrante de grupos de investigación. Además, fue profesor de cursos de postgrado en diferentes universidades de Argentina.

Por su dedicación al estudio, Rodolfo recibió la *medalla de oro* al mejor egresado en el Colegio Secundario Ernesto Miguel Araoz, el Premio "Prof. Rodolfo Amadeo Sirolli" en 1989, al *mejor egresado* de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Salta, otorgado por la Asociación Cultural Internacional y la Asociación Científica del Noroeste. También recibió

la *mención de honor* en ese mismo año, al mejor promedio de las carreras de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Salta, correspondiente al mejor egresado del ciclo 1988 - 1989.

Sus contribuciones principales se centraron en la hidrogeología regional del noroeste argentino. Su tesis doctoral, Hidrogeología del Chaco Boreal Salteño (1998), es sin duda el gran trabajo de base para la comprensión de un vasto ambiente hidrogeológico complejo.

En el ámbito privado, realizó numerosos aportes a la conceptualización del funcionamiento hidrogeológico de los ambientes de salares de la puna argentina.

Su destacada capacidad como docente, conocimiento y comprensión de las aguas subterráneas, así como su sensibilidad hacia el medio ambiente y la importancia del recurso hídrico subterráneo como sustento de vida, lo llevaron a brindar numerosas charlas sobre el tema en distintos ámbitos, no solo académicos y científicos, sino también en lugares de divulgación con público en general. Estos espacios y momentos se transformaron en fuentes de inspiración y despertar de vocaciones por el estudio de las aguas subterráneas de muchos de sus estudiantes y colegas.

Rodolfo falleció el 2 de noviembre de 2023. Unos días antes, nos dejó un mensaje conmovedor: *“Aquí estoy, 61 años ya. La vida es un viaje misterioso. No sabemos cuando llegamos ni cuando partimos. Pero vivirla fue una experiencia hermosa. Estoy conforme con lo que soy, con mis sueños, con lo que fui y con lo que no pude ser. Estoy tranquilo con mis metas alcanzadas y con mi espíritu. He de seguir caminando hasta que mis pasos se borren, pero dejaré mis huellas en aquellos que amo y me aman”.*

La vida de Rodolfo no fue fácil ni sencilla, su pasión por la vida y su espíritu de lucha nos acompañan a aquellos que conocemos sus huellas.

Verónica Rocha Fasola

Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150 (A4408FVL), Salta, Argentina.

Publicado: 15/3/2024


Facultad de Ciencias Naturales · Universidad Nacional de Salta